



Etude sur la synthèse totale du cyclothéonamide C

Stéphane Roche

► **To cite this version:**

Stéphane Roche. Etude sur la synthèse totale du cyclothéonamide C. Chimie analytique. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2006. Français. NNT : 2006CLF21642 . tel-00688797

HAL Id: tel-00688797
<https://theses.hal.science/tel-00688797>

Submitted on 18 Apr 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Numéro d'ordre : 1642

UNIVERSITE BLAISE PASCAL
(U.F.R. de Recherche Scientifique et Technique)

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES

N° : 480

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE
(Spécialité : CHIMIE ORGANIQUE)

PAR

Stéphane ROCHE
(Diplômé d'Etudes Approfondies de Chimie en 2002)

**Etude sur la synthèse totale du
Cyclothéonamide C**

Soutenue publiquement le 13 Février 2006 devant la Commission d'Examen :

Président :

J. BOLTE, Professeur à l'Université Blaise Pascal, Clermont F^d.

Rapporteurs :

J. ZHU, Directeur de Recherche CNRS à l'ICSN, Gif sur Yvette.

J. MARTINEZ, Professeur à l'Université de Montpellier I, Montpellier.

Examineurs :

S. BULL, Senior Lecturer at the University of Bath (England).

D. S. GRIERSON, Directeur de Recherche CNRS à l'Institut Curie, Orsay.

D. J. AITKEN, Professeur à l'Université Blaise Pascal, Clermont F^d.

Examineur invité:

S.FAURE, Chargée de Recherche CNRS à l'Université Blaise Pascal,
Clermont F^d.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier **Jean Bolte**, Professeur à l'Université Blaise Pascal de Clermont Ferrand, directeur de l'UMR 6504 (SEESIB) de m'avoir accueilli au sein du laboratoire et d'avoir accepté de présider le jury lors de ma soutenance de thèse.

Je suis très reconnaissant envers **David J. Aitken**, Professeur à l'Université Blaise Pascal de Clermont Ferrand, directeur du département de chimie et accessoirement mon directeur de thèse. En effet nos longues discussions, parfois houleuses mais je le crois très bénéfiques, soit à propos de sciences, de chimie, de littérature et même de football et qui ont pu données lieu à des soirées assez sympathiques m'ont permis d'avancer dans ma vie professionnelle et personnelle tout au long de ces quatre années. Merci encore.

Je suis également très ému de quitter mon encadrante **S. Faure-Roy** chargée de recherche au CNRS, qui m'a beaucoup apportée pendant nos trois ans de collaboration et qui m'a énormément appris par sa rigueur, ses connaissances et sa gentillesse, car il en fallait pas mal pour me supporter au quotidien.

Je remercie aussi tous les membres du jury : **J. Zhu**, Directeur de Recherche CNRS à l'ICSN (Gif sur Yvette), **J. Martinez**, Professeur à l'Université de Montpellier I (Montpellier) et **D. S. Grierson**, Directeur de Recherche CNRS à l'Institut Curie (Orsay) pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail et à la discussion scientifique qui en a découlée lors de la défense de ma thèse. I would like to thank **Steven Bull**, Senior Lecturer at the University of Bath (England) to be part of the jury and for accepting me in his laboratory for a short but very intense period during my thesis and also for the discovery of the Saracens head...a beautiful place !

Je tiens également à remercier **Bertrand Perrin** et **Bertrand Légeret** pour leurs aides lors de mon travail de thèse, car ils m'ont beaucoup supporté et bien sur pour leur sympathie et pour m'avoir intéressé à plein de nouvelles choses grâce à leurs caractères passionnés.

Merci les Loustics **Hélène**, **Elisabeth**, **Bertrand**, **Jérôme**, **Carlos**, **Nicolas**, **Johnny**, **Emmanuelle** et **Anne-So** et **Sam** pour leur gentillesse et pour avoir passé de si bons moments ensemble, sans oublier l'Homme qui a vu l'homme qui a vu...le Terma, le maître de conférence **M. Traikia** pour m'avoir si souvent supporté, nourrit, logé et pour bien d'autres choses inavouables...

Je voudrais aussi remercier tous les collègues du Rez de Chaussé, bâtiment 4, pour leur sympathie, leur ralliement pour celui qui se reconnaîtra et pour ces quelques années

passer à leur côté, car j'ai eu la chance d'avoir partager de bon moments avec eux (sortis, repas, pique-nique et autres activités forts agréables...).

Une spéciale dédicace aux personnes qui m'ont donné l'envi de faire de la Synthèse Organique et de la Recherche pendant mes années d'études 1997-2005 à l'Université Blaise Pascal. En commençant par **B. Schöler** en première année de DEUG, mais aussi **T. Gefflaut** et **D.J. Aitken** qui m'ont donné envi de toujours de comprendre la chimie organique et d'approfondir mes connaissances, ce qui m'a permis d'avancer jusqu'à la thèse. Mais aussi mes encadrants de stages **P. Moreau**, **S. Desbène** et **V. Weber** pour m'avoir aider dans mon apprentissage, pour leur gentillesse et pour m'avoir inciter à faire de la recherche.

Enfin je tiens à remercier **ma famille**, spécialement ceux qui sont venus me mettre la pression le jour de ma soutenance ;)) , car ils m'ont toujours supporté. Merci aussi à ma **Maman** et à **Mamie** pour leur éducation (même si les bases ne sont pas encore bien assimilées) et pour tout leur amour. Merci à **Tanja**, pour son incroyable Zen qui m'a souvent calmé, Volim te my Cvijet. Merci aussi à tous mes amis, pour les bonnes soirées et m'avoir entraîner si souvent sur les pentes savonneuses de la vie nocturne, **Pierro** (dit le Bux), **Denis**, **Valex** (surtout toi panda !!), le **TrambeR**, **Yves** (dit Bulicho), **Hervé**, **Cyril**, **Vincent**...que des mecs quoi, Ha non **Ania** aussi !!
Je crois que le compte est Bon.

De l'Ignorance vient souvent la Créativité

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| Chapitre I. Introduction bibliographique | 4 |
| I.1. Les peptides à l'origine | 5 |
| I.2. Les peptides depuis 100 ans | 6 |
| I.3. Les macrocycles peptidiques | 11 |
| I.4. Les Cyclothéonamides | 14 |
| I.5. Synthèses des Cyclothéonamides | 20 |
| I.5.1. Première synthèse totale du CtB par Schreiber | 21 |
| I.5.2. Synthèse du CtA par Wipf | 23 |
| I.5.3. Synthèses du CtB par Shiori | 27 |
| I.5.4. Synthèse du CtB par Ottenheijm | 33 |
| I.5.5. Synthèse des CtA et CtB par Maryanoff et Nicolaou | 35 |
| I.5.6. Synthèse des CtE ₂ et CtE ₃ par Wasserman | 40 |
| I.5.7. Approche des Cts par Semple via la réaction de Passerini | 44 |
| I.5.8. Synthèse d'analogues de Cts | 46 |
| I.5.9. Bilan des différentes synthèses des Cts | 48 |
| Chapitre II. Les Stratégies de synthèse du Cyclothéonamide C | 51 |
| II.1. Synthèse du CtC selon trois différentes approches | 52 |
| II.2. Choix des fragments Nucléophiles et Electrophiles | 58 |
| II.3. Plan de l'exposé | 61 |
| Chapitre III. Synthèse des fragments électrophiles peptidiques | 62 |
| III.1. Synthèse des électrophiles aldéhydiques | 64 |
| III.1.1. Synthèse des argininals | 64 |
| III.1.2. Synthèse du dipeptide N ^α -CHO-N ^β -Boc-Dpr-Pro via le Dpr | 68 |
| III.1.2.a. Le Dpr dans la littérature | 68 |
| III.1.2.b. Création du résidu Dpr dans les synthèses de Cts | 71 |
| III.1.2.c. Synthèse du résidu Dpr | 72 |
| III.1.2.d. Obtention du dipeptide N ^α -CHO-N ^β -Boc-Dpr-Pro | 74 |
| III.1.3. Synthèse du fragment tripeptide aldéhyde | 76 |
| III.2. Synthèses des électrophiles α-cétocyanophosphoranes | 77 |
| III.2.1. Synthèse des α-cétocyanophosphoranes dérivés de Arg | 78 |
| III.2.2. Synthèse du fragment tripeptide α-cétocyanophosphorane | 78 |
| III.2.2.a. Obtention d'un tripeptide α-cétocyanophosphorane par couplage entre un tripeptide linéaire et le (cyanométhylène)triphenylphosphorane | 79 |
| III.2.2.b. Obtention d'un tripeptide α-cétocyanophosphorane par développement d'un aminoacide α-cétocyanophosphorane | 80 |
| III.3. Synthèse du réactif umpolung MAC | 87 |
| III.4. Bilan synthétique de la préparation des fragments électrophiles peptidiques | 89 |
| Chapitre IV. Synthèse des fragments nucléophiles peptidiques | 92 |
| IV.1. Synthèse du résidu ΔTyr | 94 |
| IV.1.1. Création du motif ΔTyr par voies palladocatalysées | 95 |
| IV.1.1.a. Préparation des dérivés déshydroalanine | 95 |
| IV.1.1.b. Couplage de Heck | 97 |

| | | |
|--|--|-----|
| IV.1.1.c. | Attribution de la configuration de l'oléfine du motif Δ Tyr..... | 103 |
| IV.1.1.d. | Couplage de Suzuki | 104 |
| IV.1.1.e. | Bilan des méthodes palladocatalysées pour la synthèse du dipeptide N-Boc-D-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe | 107 |
| IV.1.2. | <i>Création du motif ΔTyr par la réaction de Wadsworth-Emmons</i> | 109 |
| IV.1.2.a. | Accès au phosphorylglycine dipeptide via un diazaphosphonoacétate..... | 110 |
| IV.1.2.b. | Accès au phosphorylglycine dipeptide par couplage peptidique | 111 |
| IV.1.2.c. | Réaction de Wadsworth-Emmons..... | 113 |
| IV.1.3. | <i>Bilan de la synthèse du dipeptide clé, le N-Boc-D-Phe-ΔTyr(OTIPS)-OMe</i> . | 114 |
| IV.2. | Synthèse des nucléophiles dipeptides D-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe et D-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-Ot-Bu | 115 |
| IV.2.1. | <i>Vinylogation du motif ΔTyr en V-ΔTyr</i> | 116 |
| IV.2.1.a. | Voie 1 : Tentatives de réduction du dipeptide ester en aldéhyde..... | 116 |
| IV.2.1.b. | Voie 2 : Réduction de l'amide de Weinreb en aldéhyde, puis vinylogation . | 117 |
| IV.2.1.c. | Voie 3 : Réduction de l'ester en alcool allylique puis réaction tandem oxydation-vinylogation..... | 120 |
| IV.2.1.d. | Généralisation de la méthode tandem d'oxydation-vinylogation..... | 124 |
| IV.2.2. | <i>Obtention des nucléophiles dipeptides</i> | 126 |
| IV.3. | Synthèse du nucléophile térapeptide D-Phe-V- Δ Tyr-N ^{α} -CHO-Dpr-Pro-OAllyl..... | 128 |
| IV.3.1. | <i>Synthèse du dipeptide N^{α}-CHO-N^{β}-Boc-Dpr-Pro-OAllyl</i> | 129 |
| IV.3.2. | <i>Saponification du résidu V-ΔTyr</i> | 130 |
| IV.3.3. | <i>Obtention du nucléophile térapeptide</i> | 133 |
| IV.4. | Synthèse du nucléophile dipeptide isonitrile..... | 136 |
| IV.5. | Bilan synthétique de la préparation des fragments nucléophiles peptidiques | 139 |
| Chapitre V. Elaboration des pentapeptides linéaires et macrocyclisation.. | | 142 |
| V.1. | Stratégie « PAM » | 143 |
| V.1.1. | <i>Réactions de Passerini [1+1+2] sur un système modèle</i> | 146 |
| V.1.2. | <i>Obtention du pentadepsipeptide par la réaction de Passerini [2+1+2]</i> | 148 |
| V.1.3. | <i>Obtention du pentapeptide linéaire par O,N-trans-acylation</i> | 149 |
| V.2. | Stratégie « MAC »..... | 151 |
| V.2.1. | <i>Réaction MAC modèle [1+1]</i> | 153 |
| V.2.2. | <i>Réactions MAC [2+1]</i> | 155 |
| V.2.3. | <i>Réactions MAC [2+3]</i> | 158 |
| V.2.4. | <i>Réaction MAC [4+1]</i> | 159 |
| V.2.5. | <i>Macrocyclisation des pentapeptides linéaires obtenus par réactions MAC [2+3] et [4+1]</i> | 160 |
| V.2.5.a. | Rappel bibliographique sur la macrocyclisation..... | 160 |
| V.2.5.b. | Macrolactamisation du pentapeptide linéaire issu de la réaction MAC [2+3] | 162 |
| V.2.5.c. | Macrolactamisation du pentapeptide linéaire issu de la réaction MAC [4+1] | 164 |
| V.2.6. | <i>En route vers le CtC</i> | 165 |
| V.3. | Stratégie « KAC » | 170 |

| | | |
|---|--|-----|
| V.3.1. | Réaction KAC [2+1] | 172 |
| V.3.2. | Réactions KAC [2+3] et [4+1] | 174 |
| V.3.3. | Macrocyclisation des pentapeptides linéaires obtenus par réactions KAC... .. | 176 |
| V.3.4. | En route vers le CtC | 183 |
| Chapitre VI. . Comparaison des différentes approches de la synthèse du CtC et conclusion | | 184 |
| VI.1. | Comparaison des différentes stratégies | 185 |
| VI.2. | Conclusion | 190 |
| Chapitre VII. Experimental Section | | 192 |
| VII.1. | General methods | 193 |
| VII.1.1. | Instrumentation | 193 |
| VII.1.2. | Chemicals and Solvents | 194 |
| VII.2. | General Procedures for peptides synthesis | 195 |
| VII.2.1. | General procedure for the tert-butylcarbamate (Boc) group removal. | 195 |
| VII.2.2. | General procedure to transform a tert-butylcarbamate into a 9-fluorenylmethylcarbamate (Boc to Fmoc) | 195 |
| VII.2.3. | General procedure for the Fmoc group removal. | 195 |
| VII.2.4. | General procedure for deprotection of benzyl ester and/or benzylcarbamate by hydrogenation | 196 |
| VII.2.5. | General procedure for peptide coupling reaction using EDCi / HOBt | 196 |
| VII.2.6. | General procedure for peptide coupling reaction using EDCi / DMAP | 196 |
| VII.3. | Experimental Procedures chapter III | 197 |
| VII.4. | Experimental Procedures chapter IV | 216 |
| VII.5. | Experimental Procedures chapter V | 249 |
| Chapitre VIII. Références Bibliographiques | | 271 |

Chapitre I.

Introduction bibliographique

1.1. Les peptides à l'origine

Depuis les débuts de la philosophie les hommes réfléchissent à des hypothèses sur la naissance de la vie sur Terre. Ces idées ont évolué jusqu'à se demander comment les codes génétiques que sont l'ADN ou l'ARN ont pu se développer afin de créer une forme de vie unicellulaire. Malgré de nombreuses questions restantes, il est intéressant de noter ce que l'on pourrait appeler 'l'évolution chimique', qui en quelque sorte a permis l'évolution biochimique sur Terre par la création de peptides¹. Passant outre la naissance du phénomène d'énantiosélectivité sur Terre ou ailleurs dans l'univers, les monomères que sont les aminoacides se sont fait couplés pour donner des peptides qui par la suite sont devenus plus complexes, pour se structurer en oligopeptides formant ainsi des protéines, des enzymes, des transporteurs... La réaction chimique de couplage peptidique en milieu aqueux est très défavorable cinétiquement et thermodynamiquement mais plusieurs théories ont été mises en avant pour en démontrer la faisabilité. L'une d'entre elle est la réaction SIPF (Salt Induced Peptide Formation), qui propose une catalyse par le cuivre (II) dans un milieu acide très chargé en sels se rapprochant des conditions prébiotiques (**Figure 1**). De nombreuses expériences ont été menées dans ces conditions afin de construire un modèle empirique pour l'obtention de dipeptides à partir des aminoacides naturels Asp, Glu, Gly, Pro, Lys..., avec des rendements de l'ordre de 1%¹.

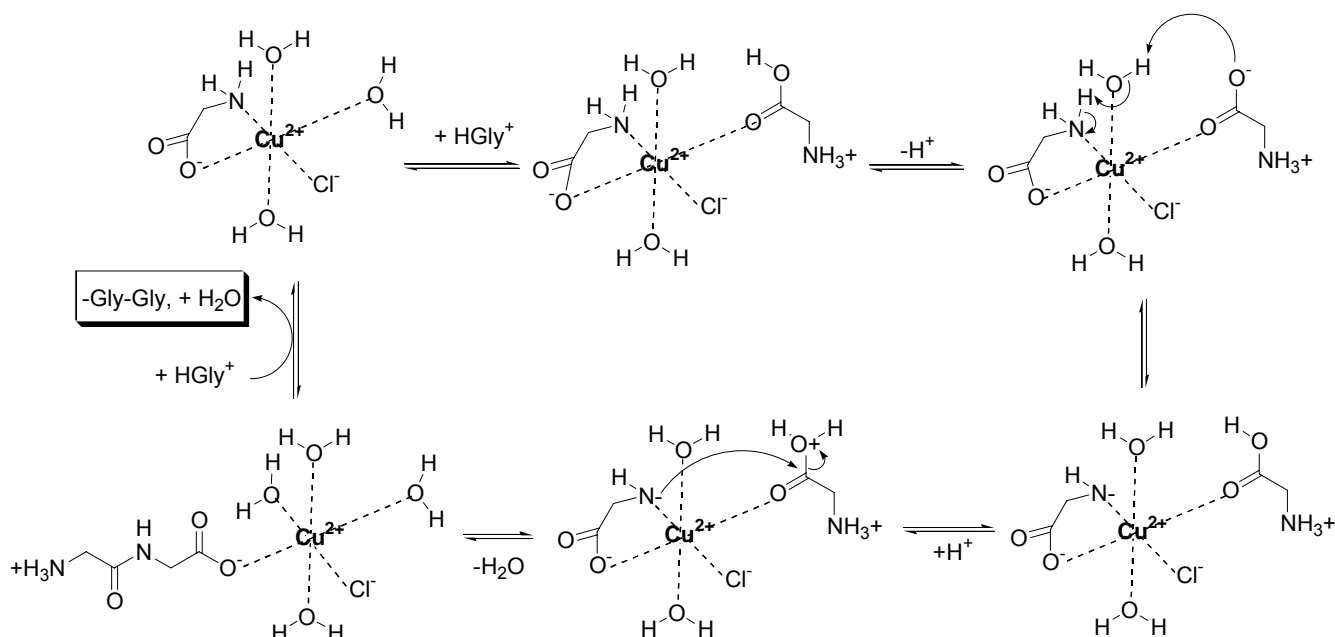


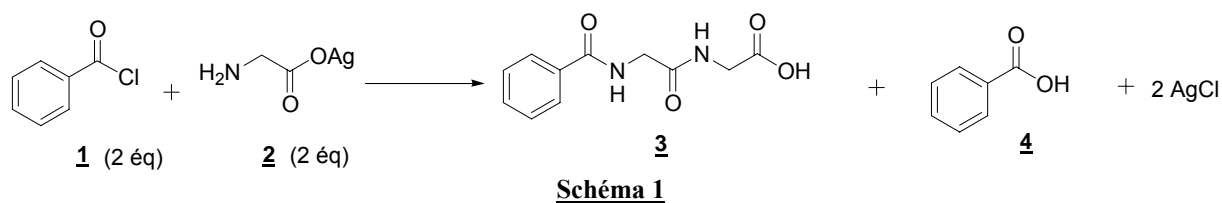
Figure 1. Cycle catalytique de synthèse de dipeptides par la réaction SIPF.

¹ B. M. Rode, *Peptides* **1999**, 20, 773-786.

Nous allons voir par la suite que la formation d'une de liaison amide reste d'un intérêt tout particulier, puisque aucun réactif de couplage, parmi les nombreux carbodiimides, phosphoniums, uroniums...*etc*, n'a pu être assez général pour supplanter tous les autres. En effet la création d'une liaison peptidique par un couplage mettant en jeu des aminoacides α,β -insaturés, α -disubstitués ou encore à conformation restreinte nécessite l'utilisation de réactifs de couplage variés.

1.2. Les peptides depuis 100 ans

Nous allons présenter un bref aperçu de l'histoire de la chimie des peptides², de la première synthèse du dipeptide **3** par Curtius³ en 1882 (**Schéma 1**), jusqu'aux protéines de plus de 200 aminoacides qu'il est aujourd'hui possible de synthétiser. En effet il est remarquable que la chimie des peptides ait suscité un tel intérêt et de tels progrès pendant le XX^{ème} siècle. Mais forcé de constater que les peptides et les protéines jouent un rôle crucial dans la vie cellulaire par leurs actions dans les différentes voies métaboliques et dans le contrôle cellulaire. Ainsi les hormones, les neurotransmetteurs et les transporteurs qui sont des agents de communications intercellulaires, les anticorps du système immunitaire ainsi que les enzymes en sont de bons exemples intervenant à tous les niveaux de la vie cellulaire.

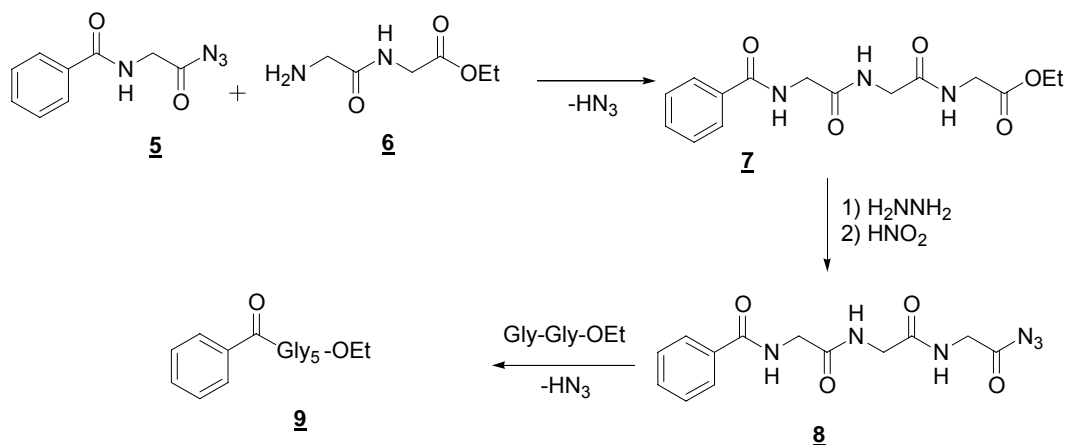


Curtius a beaucoup travaillé sur les composés diazo et a développé la première méthode relativement pratique de synthèse des peptides par activation d'un acide carboxylique en azide, tel le composé **8** (**Schéma 2**)⁴.

² T. Kimmerlin, D. Seebach, *J. Peptide Res.* **2005**, 65, 229-260.

³ T. Curtius, *J. Prakt. Chem.* **1882**, 26, 145-208.

⁴ T. Curtius, *J. Prakt. Chem.* **1904**, 70, 57-108.

**Schéma 2**

Parallèlement, Fischer a mis au point une deuxième méthode de couplage par activation des acides carboxyliques en chlorure d'acide en utilisant PCl_5 ⁵. Toutefois, le problème majeur qui a suivi ces découvertes a été la protection et déprotection des aminoacides et des peptides sans racémisation dans des conditions assez drastiques. En 1931 Bergmann introduit le groupement benzylcarbamate (Cbz) qui résout certains de ces problèmes. En effet ce groupement Cbz, protecteur d'amine, est introduit dans des conditions douces et enlevé par hydrogénation (H_2 , Pd/C) ou en milieu acide (HBr/AcOH). Il a fallu attendre ensuite les années 1950 pour voir se développer considérablement la chimie des peptides grâce à l'introduction d'un nouveau groupement protecteur : le *tert*-butylcarbamate (Boc) par Carpino. En effet le groupement Boc permet de protéger orthogonalement les aminoacides et il peut être enlevé de façon sélective par action d'acide trifluoroacétique (TFA) permettant ainsi de mieux contrôler les synthèses et d'élaborer des squelettes peptidiques plus complexes⁶.

De plus ce développement a été accompagné de la découverte de nouveaux agents de couplages : les carbodiimides tels le dicyclohexylcarbodiimide (DCC, **10**) et le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (EDCI, **11**)⁷. Ces agents de couplages sont très performants mais ont un important pouvoir de racémisation nécessitant parfois l'utilisation d'additifs comme le 1-hydroxybenzotriazole (HOBt, **12**) ou le 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (HOAt, **13**) (**Figure 2**)⁸. L'apparition de nouvelles familles de réactifs de couplage n'a cessé jusqu'à nos jours, comme le montre le rapport de Han et Kim⁹, afin d'améliorer la réactivité et

⁵ E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1905**, 38, 605-620.

⁶ L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 4427-4430.

⁷ J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 1067-1068.

⁸ L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 4397-4398.

⁹ S.-Y. Han, Y.-A. Kim, *Tetrahedron* **2004**, 60, 2447-2467.

réduire les problèmes de racémisation. Ainsi ont été développés les familles de phosphoniums (BOP **14**, AOP **15**...) initiés par Castro et Coll.¹⁰ dans les années 70, puis les uroniums (HBTU **20**, HATU **22**...) introduits par Gross¹¹, les agents phosphorés (DPPCI **24**, DEPC **26**, DPPA **27**...) ¹² et les chloroformiates (IBCF **29**, IPCF **30**...) ¹³ (**Figure 2**).

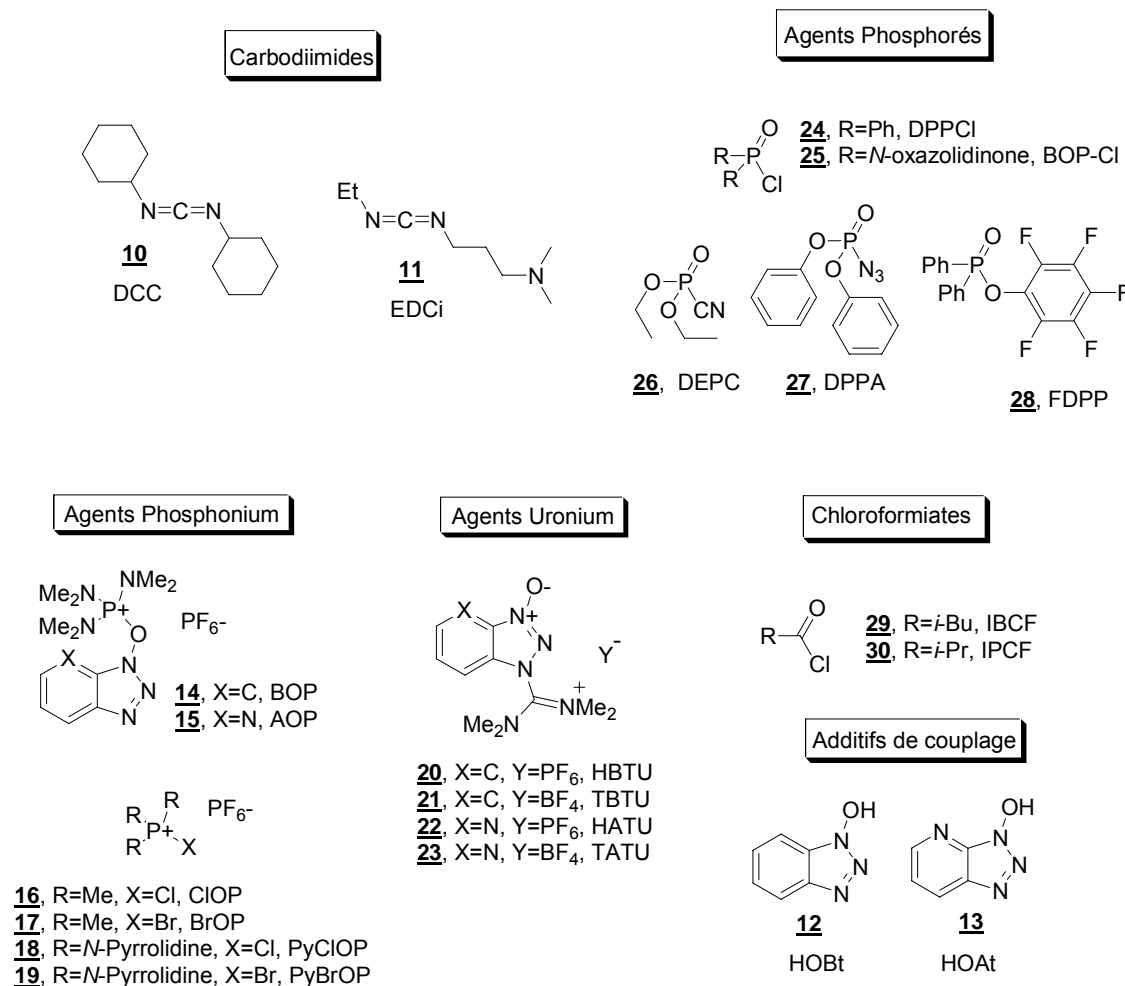


Figure 2. Les réactifs de couplage et les additifs développés depuis les années 1950.

Les chimistes se sont alors lancés le défi de synthétiser à l'aide de ces nouveaux outils des substances naturelles plus complexes et c'est à Schwyzner et Sieber¹⁴ que l'on doit l'une des plus élaborée pour l'époque : la synthèse de la Adrenocorticotrophic Hormone (ACTH) en 1963, une molécule de 39 aminoacides.

Cette même année, Merrifield¹⁵ publie un article qui fera date puisqu'il y introduit la notion de SPPS (Solid-Phase Peptide Synthesis), une méthodologie de synthèse sur support

¹⁰ B. Castro, J. R. Dormoy, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 3243-3246.

¹¹ V. Dourtoglou, J-C. Ziegler, B. Gross, *Synthesis* **1984**, 572-574.

¹² T. Shiori, K. Ninomiya, S.-I. Yamada, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 6203-6205

¹³ G. W. Anderson, J. E. Zimmerman, F. M. Callahan, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 5012-5017.

¹⁴ R. Schwyzner, P. Sieber, *Nature* **1963**, 199, 172-174.

¹⁵ R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.

solide qui n'a cessée de se développer jusqu'à nos jours. La SPPS permet l'obtention de peptides greffés sur une résine pouvant être facilement séparés des sous produits de réaction et des produits de départ restants par filtration. Les avantages de cette méthode résident dans la simplicité des traitements post-réactionnels permettant ainsi des réactions en chaînes, voir une automatisation du procédé. Par la suite, l'équipe de Carpino a optimisé la SPPS en incorporant une nouvelle protection des aminoacides : le 9-fluorenylmethyl carbamate (Fmoc) sur l'amine (**Figure 3**)¹⁶. Ce groupement protecteur orthogonal (sensible aux conditions basiques) facilite la déprotection sélective de l'amine par rapport aux chaînes latérales à l'aide d'une amine secondaire telle que la diéthylamine. Ceci permet d'enchaîner les aminoacides les uns derrière les autres de façon automatisée sans aucun décrochage de la résine du peptide formé, « méthode de synthèse au Fmoc » (**Figure 3**).

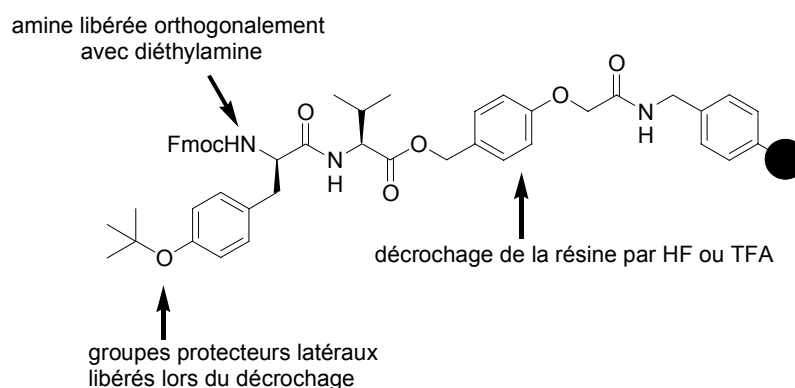


Figure 3. SPPS au Fmoc.

La SPPS a permis, dans les années 80-90, la synthèse de peptides de plus en plus complexes¹⁷, mettant ainsi au jour de nouveaux problèmes. En effet, pour une synthèse peptidique mettant en jeu 20-30 aminoacides, les protections orthogonales utilisables ne sont pas toujours évidentes. De plus les peptides ainsi obtenus doivent être purifiés après décrochage de la résine (par HPLC préparative) et leur solubilité dans les solvants organiques diminue considérablement après déprotection. Ceci pose quelques problèmes lorsque l'on envisage des synthèses convergentes mettant en jeu des peptides déprotégés afin de synthétiser des oligopeptides de grande taille (**Figure 4**).

Plus récemment, une nouvelle évolution de la SPPS a été apportée par la « chemical ligation » ou liaison chimique native. Pour une synthèse d'oligopeptides, les disconnections rétrosynthétiques possibles sont nombreuses, d'où l'idée d'utiliser des aminoacides présents

¹⁶ L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 5748-5749.

¹⁷ K. Barlos, D. Gatos, *Biopolymers* **1999**, 51, 266-278.

comme la cystéine (Cys) pour aider à la synthèse (**Figure 4**)¹⁸. La synthèse peptidique par « chemical ligation » n'utilise que des aminoacides non protégés, qui sont facilement décrochés de la résine et purifiés par HPLC. L'intérêt de cette méthode réside dans la facilité de couplage entre les différents peptides à pH physiologique (**Figure 4**). Ainsi les peptides en solution homogène sont couplés entre eux par cette liaison native entre le thiol de Cys et un thioester. L'oligothiopeptide obtenu va ensuite se réarranger par transacylation pour générer une liaison peptidique de façon irréversible. Par cette méthode, la synthèse de protéines natives s'est développée de façon importante et la première synthèse chimique de la HIV-1 protéase en est un très bel exemple^{19,20}. L'HIV-1 protéase est un homodimère de 198 aminoacides (22 kDa) constituée de deux sous unités identiques comportant chacune deux résidus cystéine permettant ainsi sa synthèse à l'aide de SPPS par « chemical ligation ».

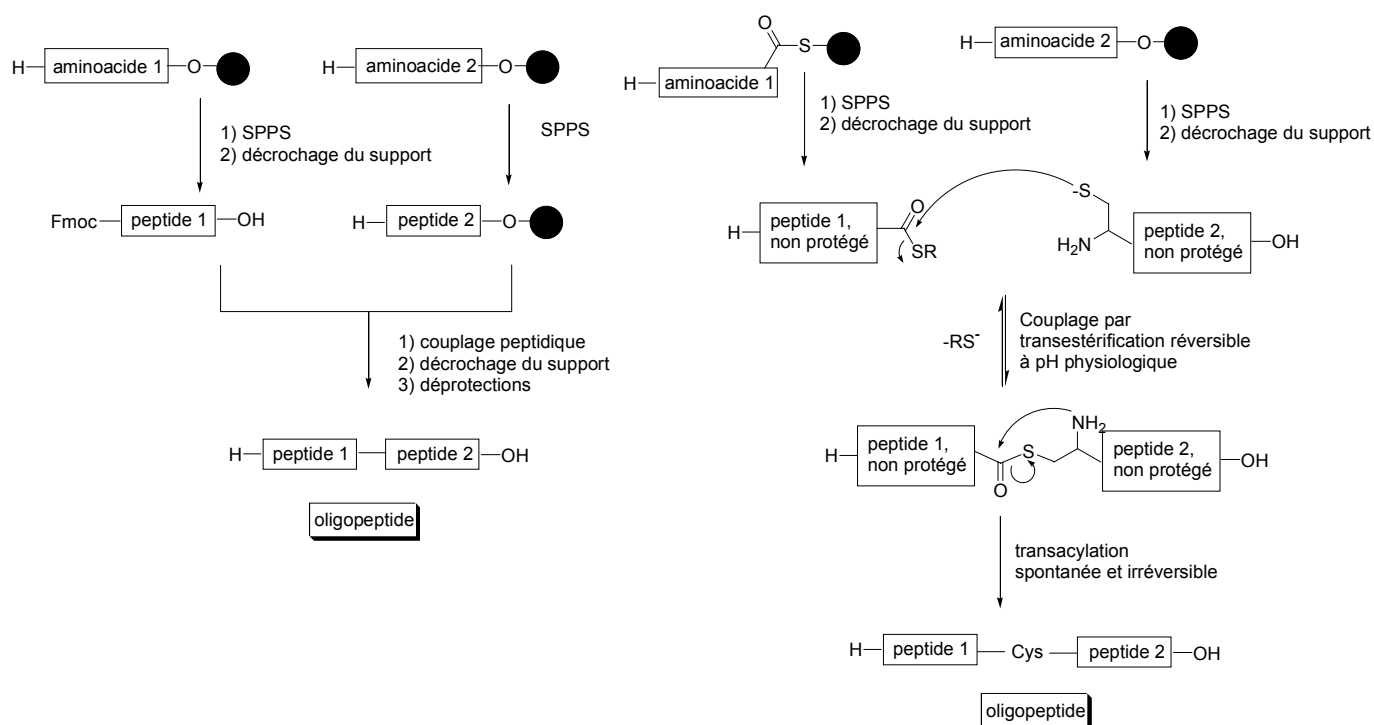


Figure 4. Comparaison entre SPPS simple et avec liaison chimique native

Le **Tableau 1** reflète tout l'intérêt des peptides et des protéines en tant qu'agents thérapeutiques sur différentes cibles biologiques et témoigne de l'essor de la chimie des peptides en 2004.

¹⁸ *Revue* : D. S. Y. Yeo, R. Srinivasan, G. Y. J. Chen, S. Q. Yao, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 4664-4672.

¹⁹ A. Wlodawer, M. Miller, M. Jaskolski, B. K. Sathyanarayana, E. Baldwin, I. T. Weber, L. M. Selk, L. Clawson, J. Schneider, S. B. H. Kent, *Science*, **1989**, *245*, 616-621.

²⁰ S. Kent, *J. Peptide Sci.* **2003**, *9*, 574-593.

Tableau 1. peptides/protéines sur le marché pharmaceutique 2004

| Peptides et protéines | Activité biologique | Ventes en 2004 (estimation, M€) |
|-----------------------|-----------------------|------------------------------------|
| Captopril | Antihypertension | 1177 |
| Cyclosporine | Immunosuppressant | 813 |
| Calcitonin | Régulation du calcium | 800 |
| Leuprolide | Cancer de la prostate | 650 |
| Goserelin | LH-RH hormone | 344 |
| Octreotide | Antisecretion | 228 |
| Buserelin | Cancer de la prostate | 150 |
| Thymopentin | Immunomodulateur | 100 |

On peut donc dire après cette courte introduction sur l'évolution de la chimie des peptides que le rêve de Fisher, qui était dans les années 1930 de synthétiser des protéines est devenu réalité. Pour cela il a fallu des décennies de recherche sur la création de groupements protecteurs et d'agents de couplage afin d'arriver à des synthèses élaborées et performantes. L'évolution de la chimie des peptides a été motivée par la découverte de nouveaux peptides présents dans la nature ayant un intérêt thérapeutique.

I.3. Les macrocycles peptidiques

Depuis longtemps, les produits naturels émerveillent les scientifiques. En plus des protéines et enzymes qui sont issues des voies métaboliques primaires, de plus petits peptides et depsipeptides sont également produits dans la biosphère. En effet les voies métaboliques secondaires permettent la synthèse de nombreux peptides originaux et très complexes contenant des aminoacides non protéinogéniques tels des aminoacides de la série *D*, mais aussi (**Figure 6**)²¹ :

- des aminoacides ayant des chaînes latérales complexes et hydroxylées tels la vinylglycine **31**, le MeBmt **32**, ou le Adda **33**,
- des α,β -déshydroamino acides (Δ aa) tels la déshydroalanine **34** et la déshydrotyrosine **35**,
- des β -aminoacides (β aa) tels l'acide β -aminobutanoïque **36** et l'acide α,β -diaminopropionique **37**,
- des aminoacides α,α -disubstitués tels que Aib **38** et α -Me-Arg **39**,
- ou encore des aminoacides cycliques tels l'aziridine **40** et l'azétidine **41**...

²¹ *Dictionary of Natural Products 1994 Vol. 7*, Ed. Chapman & Hall, London, p 288-292.

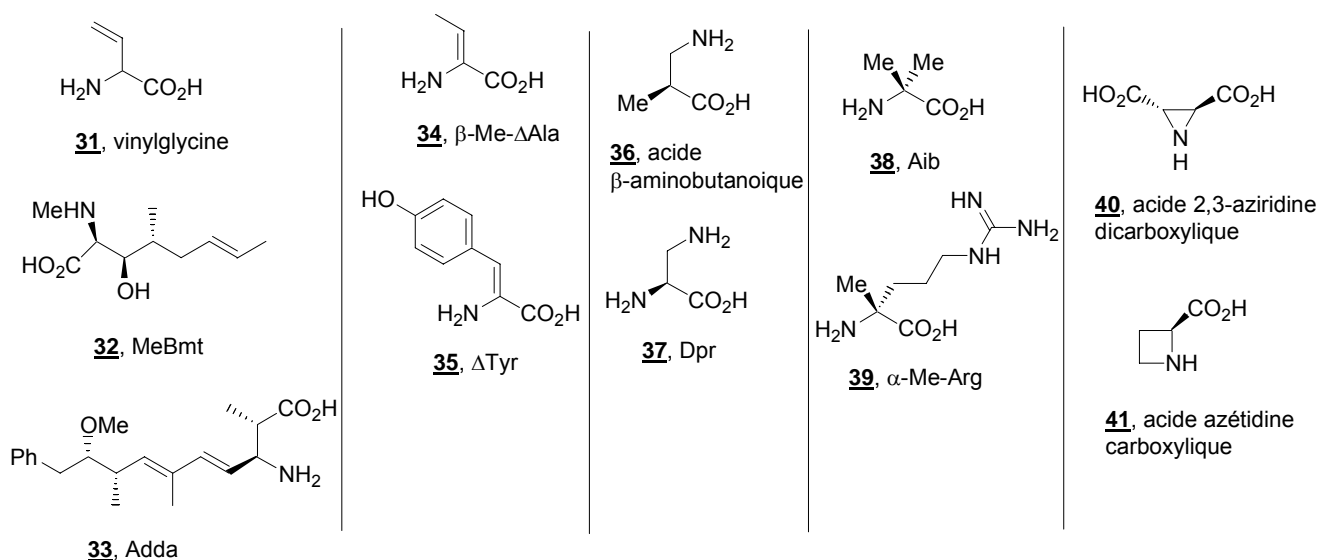


Figure 6. Quelques structures d'acides aminés non protéinogéniques

Ces acides aminés non protéinogéniques représentent souvent un défi synthétique²² et sont présents dans de nombreux produits naturels et notamment dans des macrocycles peptidiques complexes.^{23,24}

Des organismes marins invertébrés tels que les éponges, les coraux ou les mollusques produisent un éventail remarquable de métabolites secondaires ayant des structures moléculaires très complexes.^{25,26,27} La recherche sur les produits naturels provenant de la biosphère marine s'intensifie, non seulement car leurs structures représentent un défi synthétique, mais aussi car leurs propriétés biologiques et pharmacologiques sont variées : toxines, bloqueurs de canaux ioniques, activité anticancéreuse, anti inflammatoire, antimicrobienne ou encore antivirale.^{28,29} Les éponges *Theonella* sont un exemple parfait de la richesse de la biosphère marine, puisqu'elles se sont avérées être une source riche de métabolites secondaires de structure unique, tels des stéroïdes, des calyculines, des peptides, des depsipeptides, des macrolides et surtout des macrocycles peptidiques (**Figure 7**).

²² D. A. Evans, A. E. Weber, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 6757-6761.

²³ R. E. Moore, J. L. Chen, B. S. Moore, G. M. L. Patterson, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5083-5084.

²⁴ Revue : J. M. Humphrey, A. R. Chamberlin, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2243-2266.

²⁵ J. Kobayashi, M. Ishibashi, M. Daus, in *Comprehensive Natural Products Chemistry Vol. 8*, **1999**, Ed. K. Mori, Elsevier, Oxford, p 415-649.

²⁶ D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 1-6 ; et les revues suivantes dans cette série.

²⁷ Un fascicule entier de *Chemical Reviews* est dédié à la chimie des produits marins : *Chem. Rev.* **1993**, *93*, Fascicule n° 5, p 1673-1944.

²⁸ N. Fusetani, *Drugs from the Sea* **2000**, Ed. Karger, Bâle.

²⁹ D. H. Attaway, O. R. Zaborsky, *Pharmaceutical and Bioactive Natural Products* **1992**, Vol. 1, Ed. Plenum Press, New York.

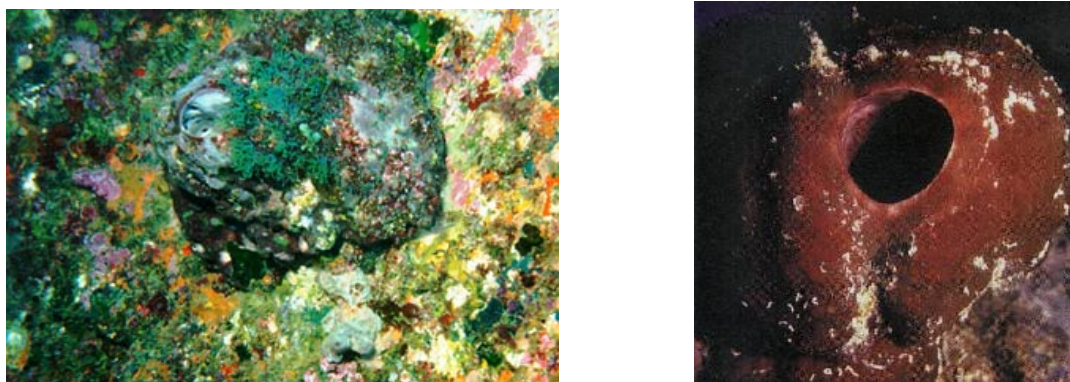


Figure 7. Photographies d'éponges *Theonella* dans la mer du japon.

Parmi les peptides cycliques ayant une activité biologique isolés de l'éponge *Theonella*, on retrouve : **(Figure 8)** :

- Les microsclérodermines C et D **42** et **43**, des agents antifongiques³⁰
- Les kéramamides K, L **44** et **45** des agents cytotoxiques³¹
- Les papuamides C et D, des depsipeptides **46**, **47**, inhibiteurs du VIH³²

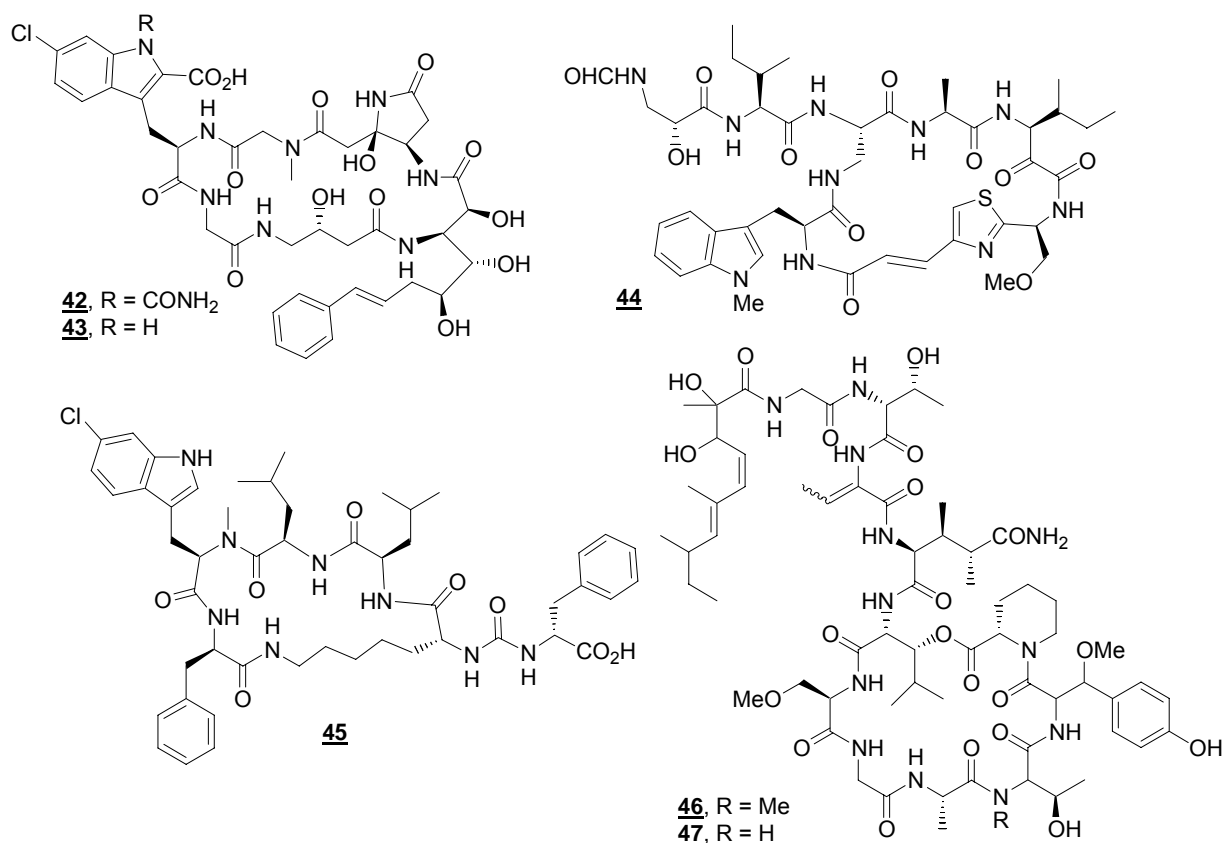


Figure 8. Peptides macrocycliques isolés d'éponges *Theonella*

³⁰ E. W. Schmidt, D. J. Faulkner, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3043-3056.

³¹ H. Uemoto, Y. Yahiro, H. Shigemori, M. Tsuda, T. Takao, Y. Shimonishi, J. Kobayashi, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 6719-6724.

³² P. W. Ford, K. R. Gustafson, T. C. McKee, N. Shigematsu, L. K. Maurizi, L. K. Pannell, D. E. Williams, E. D. De Silva, P. Lassota, T. M. Allen, R. Van Soest, R. J. Andersen, M. R. Boyd, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5899-5909.

Des éponges *Theonella swinhoei* et *Theonella ircinia*, ont été également isolés les cyclothéonamides, une famille de macrocycles peptidiques d'un intérêt tout particulier, tant au niveau structural que pour leur activité biologique.

1.4. Les Cyclothéonamides

Dans trois articles publiés pendant les années 90 Fusetani et coll. ont décrits l'extraction, l'isolement et l'identification structurale de sept nouveaux pentapeptides macrocyclique présents dans l'éponge *Theonella swinhoei*, les cyclothéonamides (Cts), appelés CtA, CtB, CtC, CtD et CtE₁₋₃^{33,34,35}. En 2002, deux nouveaux membres de cette famille des Cts ont été extraits d'une autre éponge *Theonella* d'espèce *ircina*, les CtE₄ et CtE₅ portant le total des Cts à neuf (**Figure 9**)³⁶. Les Cts sont tous constitués d'un macrocycle à 18 chaînons dont le squelette peptidique contient un aminoacide naturel, la *L*-proline (**Pro**), mais aussi quatre autres aminoacides non protéinogéniques originaux : l' α -céto-*L*-homoarginine (**K-Arg**) ; un vinylogue de la *L*-tyrosine (**V-Tyr**) ; un aminoacide hydrophobe (**Xaa**) de configuration *D* pouvant être la phénylalanine (**Phe**), la valine (**Val**) ou l'isoleucine (**Ile**) et l'acide *L*- α,β -diaminopropionique (**Dpr**) dont la chaîne latérale portée par l'amine- α est souvent élaborée (**Figure 9**).

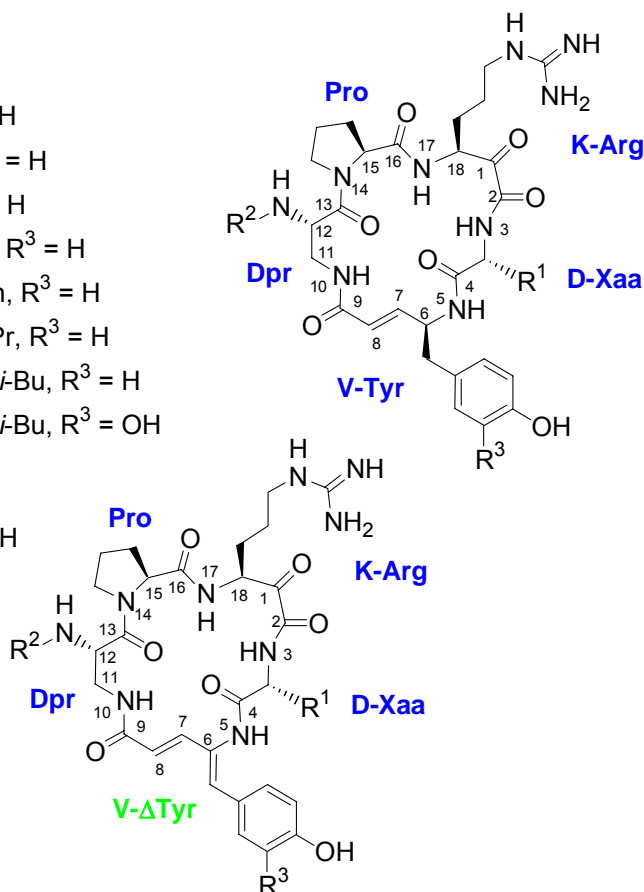
La configuration absolue du résidu V-Tyr du CtB, attribuée par Fusetani³³ a été rectifiée lors de la première synthèse de Schreiber, ce qui est une démonstration de la complexité d'analyse des produits naturels et de l'intérêt de *la synthèse totale* pour obtenir une plus grande quantité d'échantillon de produit afin de réaliser des analyses structurales complètes.

³³ N. Fusetani, S. Matsunaga, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7053-7054.

³⁴ N. Fusetani, S. Matsunaga, Y. Nakao, *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, *3*, 1115-1122.

³⁵ N. Fusetani, S. Matsunaga, Y. Nakao, N. Oku, *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 667-670.

³⁶ Y. Murakami, M. Takei, K. Shindo, C. Kitazume, J. Tanaka, T. Higa, H. Fukamachi, *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 259-261.

Cyclothéonamides (CtA-CtE₅)**48, CtA** : R¹ = Bn, R² = CHO, R³ = H**49, CtB** : R¹ = Bn, R² = COCH₃, R³ = H**51, CtD** : R¹ = *i*-Pr, R² = CHO, R³ = H**52, CtE₁** : R¹ = *i*-Bu, R² = AlaCOBn, R³ = H**53, CtE₂** : R¹ = *i*-Bu, R² = AlaCOPh, R³ = H**54, CtE₃** : R¹ = *i*-Bu, R² = AlaCO*i*-Pr, R³ = H**55, CtE₄** : R¹ = *i*-Bu, R² = AlaCO-2-*i*-Bu, R³ = H**56, CtE₅** : R¹ = *i*-Bu, R² = AlaCO-2-*i*-Bu, R³ = OH**50, CtC** : R¹ = Bn, R² = CHO, R³ = H**Figure 9. La famille des neuf Cts isolés par Fusetani et coll. et par Murakami et coll.****Tableau 2. Rdts des Cts extraits des éponges *Theonella* et activités inhibitrice vis-à-vis de sérine protéases**

| CtX | Cyclothéonamides | | | Rdt de l'extraction en masse (%) | IC ₅₀ (nmol.L ⁻¹) | | Refs |
|----------------|------------------|------------------------|----------------|----------------------------------|--|----------|------|
| | R ¹ | R ² | R ³ | | thrombine | trypsine | |
| A | Bn | CHO | H | 5.10 ⁻⁴ | 76 | 200 | 33 |
| B | Bn | COCH ₃ | H | 1.10 ⁻⁴ | * | * | 33 |
| C | Bn | CHO | H | 1,7.10 ⁻⁴ | 8,4 | 7,4 | 34 |
| D | <i>i</i> -Pr | CHO | H | 1,8.10 ⁻⁵ | 5,2 | 63 | 34 |
| E | <i>i</i> -Bu | Ala-COBn | H | 2,0.10 ⁻⁶ | 2,9 | 30 | 35 |
| E ₂ | <i>i</i> -Bu | Ala-COPh | H | 3,8.10 ⁻⁷ | 13 | 55 | 35 |
| E ₃ | <i>i</i> -Bu | Ala-CO <i>i</i> -Pr | H | 1.10 ⁻⁶ | 9,5 | 52 | 35 |
| E ₄ | <i>i</i> -Bu | Ala-CO-2- <i>i</i> -Bu | H | 8,5.10 ⁻⁸ | 7,4 | 5,9 | 36** |
| E ₅ | <i>i</i> -Bu | Ala-CO-2- <i>i</i> -Bu | OH | 6,1.10 ⁻⁸ | 68 | 37 | 36** |

* IC₅₀ non déterminée ; ** Les CtE, CtE₄ et CtE₅ ont également été testés comme inhibiteurs de tryptase humaine avec des IC₅₀ respectives de 6,9-5,1 et 84,7 nmol.L⁻¹.

Comme on le voit sur le **Tableau 2**, les rendements des extractions des Cts des éponges *Theonella* sont très faibles. Les éponges fournissent seulement une quantité suffisante de substances naturelles pour permettre leur identification, mais ne peuvent en aucun cas être exploitées comme source abondante de Cts. Or les Cts ont une activité biologique importante, puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs de sérine protéases comme la thrombine ou la trypsine avec des pouvoirs inhibiteurs IC₅₀ variant de 2.9 à 200 nM environ, selon le cas (**Tableau 2**).

La thrombine a été choisie par Fusetani comme enzyme cible pour les Cts, car elle est une sérine protéase impliquée dans la coagulation sanguine. En effet, les thromboses représentent à l'heure actuelle une des causes majeures de mortalité dans le monde développé et la dernière enzyme impliquée dans la cascade d'événements conduisant à la coagulation sanguine est la thrombine³⁷. La thrombine est une sérine protéase de la famille de la trypsine, responsable de la coupure du fibrinogène en fibrine laquelle est polymérisée avec des plaquettes pour former un caillot sanguin (thrombus)³⁸. D'ailleurs la structure cristallographique du complexe CtA-thrombine montre que le résidu K-Arg occupe le site **S1** (Asp₁₈₉ et Gly₂₁₉) du site actif, que les résidus Pro et Tyr occupent le site **S2** (Trp_{60D}, Tyr_{60A}...) et que le résidu hydrophobe (Xaa) des Cts interagit par π stacking avec la poche **S3** (Trp₂₁₅) (**Figure 10**)^{39,40}. Le motif cétone du K-Arg est pour sa part un piège électrophile pour le résidu sérine de la triade catalytique Asp₁₀₂, His₅₇ et Ser₁₉₅ (**Figure 11**).

³⁷ R. W. Colman, J. Hirsh, V. J. Marder, E. W. Salzman, Eds.; *Haemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice*, **1994**, 3rd Edn., Lipincott, Philadelphia.

³⁸ L. J. Berliner, Ed.; *Thrombin: structure and function* **1992**, Plenum Press, New York.

³⁹ B. E. Maryanoff, X. Qui, K. P. Padmanabhan, A. Tulinsky, H. R. Almond, Jr., P. Andrade-Gordon, M. N. Greco, J. A. Kauffman, K. C. Nicolaou, A. Liu, P. H. Brungs, N. Fusetani, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 8048-8052.

⁴⁰ V. Ganesh, A. Y. Lee, J. Clardy, A. Tulinsky, *Protein Sci.* **1996**, *5*, 825-835.

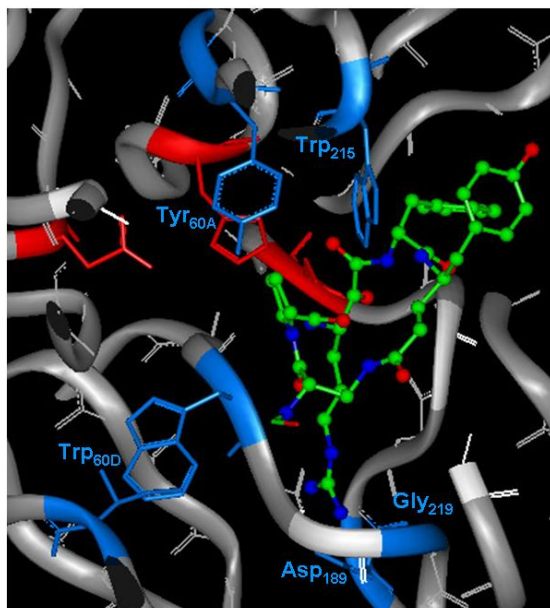


Figure 10. Interactions CtA-thrombine dans les poches S1, S2 et S3 (DRX du complexe CtA-thrombine).

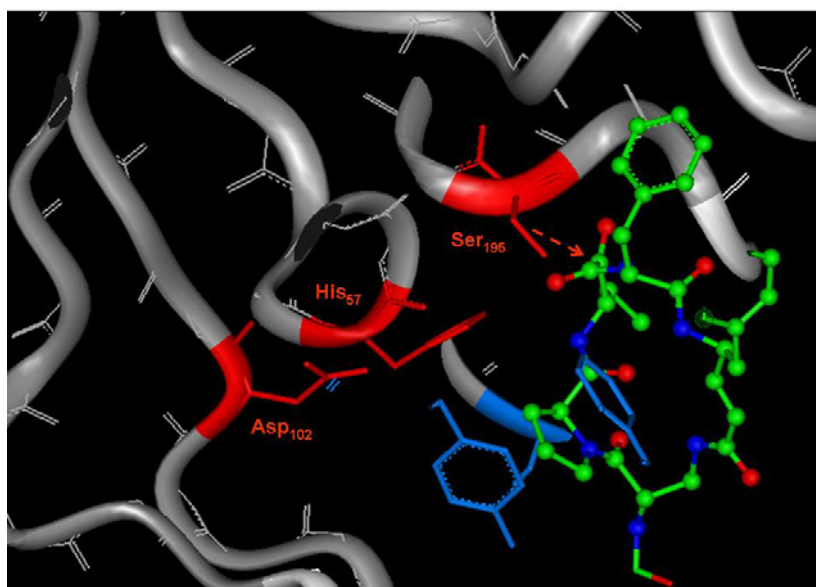


Figure 11. Interaction entre le CtA et la triade catalytique de la thrombine (DRX CtA-thrombine).

Ces dernières années, la conception rationnelle ou « design » d'inhibiteurs dont les structures sont inspirées de celle du composé *D*-Phe-Pro-Arg-chlorométhylcétone (PPACK) **51** a beaucoup progressée, notamment grâce aux nombreuses informations structurales obtenues par des études radiocristallographiques menées sur des complexes enzyme-

inhibiteur^{41,42}. PPACK **51** est le prototype d'un inhibiteur tripeptidique agissant directement sur le site actif de la thrombine. En effet **51** possède des interactions de type ionique avec la poche **S1** de la thrombine, ainsi que des interactions de type hydrophobe avec les poches **S2** et **S3**, et deux pièges électrophiles pour l'hydroxyle de la **Ser₁₉₅** et pour le résidu **His₅₇** (**Figure 12**)⁴³.

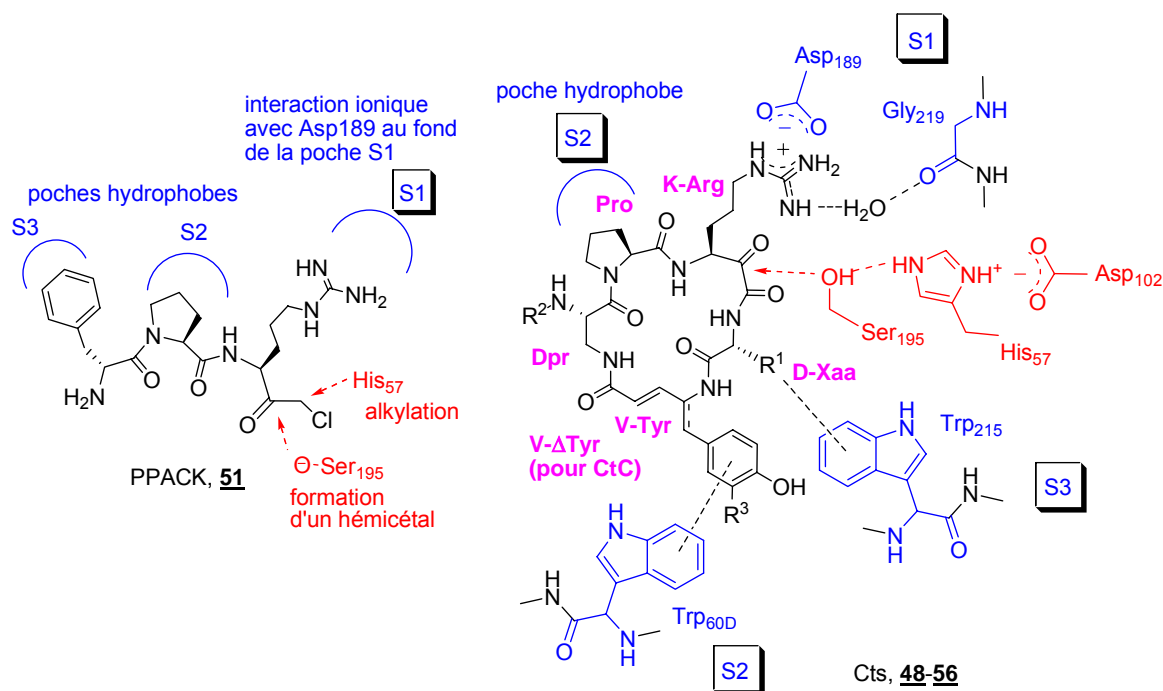


Figure 12. Comparaison des interactions du modèle PPACK et des Cts avec la thrombine

On peut observer sur la **Figure 12** l'analogie des différentes interactions des Cts **48-56** et PPACK **51** avec la thrombine (poches **S1**, **S2** et **S3**). Pourtant les Cts ne sont pas très sélectifs et inhibent probablement toute une famille de protéases, notamment la trypsine et la tryptase (**Tableau 2**). Une comparaison de la structure cristallographique du complexe CtA-trypsine avec celui de CtA-thrombine révèle des interactions similaires et suggère que la présence du *D*-Phe confère au CtA une meilleure affinité pour la thrombine que pour la trypsine^{40,44}.

On peut déduire de ces différentes études que les cyclothéonamides sont des inhibiteurs puissants de sérine protéases dont certains aspects structuraux ne sont pas

⁴¹ Références citées dans a) J. P. Vacca, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1998**, 33, 81-90; b) J. M. Fevig, R. R. Wexler, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1999**, 34, 81-100; c) S. Hanessian, E. Balaux, D. Musil, L.-L. Olsson, I. Nilsson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 243-247.

⁴² P. E. J. Sanderson, A. M. Naylor-Olsen, *Curr. Med. Chem.* **1998**, 5, 289-304.

⁴³ W. Bode, D. Turk, A. Karshikov, *Protein Sci.* **1992**, 1, 426-471.

⁴⁴ A. Y. Lee, M. Hagihara, R. Karmacharaya, M. W. Albers, S. L. Schreiber, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 12619-12620.

optimisés l'inhibition sélective de la thrombine³⁹. L'équipe de Maryanoff a réalisé une étude concernant la stabilité du CtA en milieu basique (Na_2CO_3 ou NEt_3)⁴⁵. Cette étude montre que l'amine- δ de K-Arg est capable d'attaquer la fonction cétone du même motif K-Arg pour former un héli-aminal cyclique à 6 chaînons **48a** (**Figure 13**). Cette réaction de condensation irréversible est plus rapide que l'épimérisation de K-Arg en C₃ qui était attendue par les auteurs. Cette attaque de l'amine- δ de la guanidine sur la cétone de K-Arg témoigne de l'électrophilie importante de la fonction α -cétoamide des Cts.

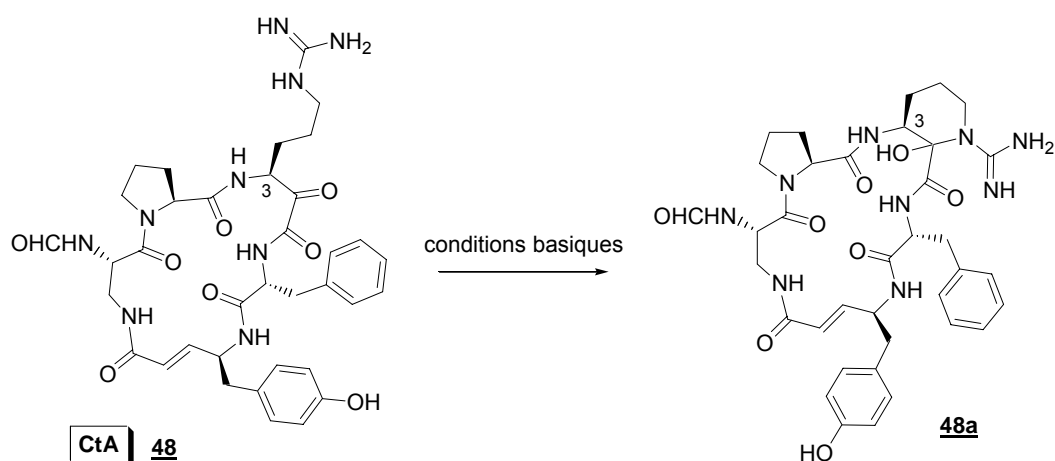


Figure 13. Cyclisation intramoléculaire du CtA en milieu basique

De plus le développement d'inhibiteurs agissant directement sur le site actif de l'enzyme, sélectifs pour la thrombine vis-à-vis d'autres sérine protéases, ayant un bon profil pharmacologique (actif par voie orale, longue durée de vie dans le plasma, absorption efficace) demeure un objectif thérapeutique primordial pour l'industrie pharmaceutique. Les Cts, par leur activité biologique sont donc potentiellement très intéressants ; cependant les quantités de substances extraites du milieu naturel ne permettent pas d'études approfondies. Les Cts sont une parfaite illustration de l'intérêt pour l'activité appelée *synthèse totale de produits naturels* : d'une part, par les contraintes sévères concernant leur isolement de sources naturelles et d'autre part par leur originalité structurale qui représente un réel défi synthétique pour le chimiste organicien.

Pour toutes ces raisons, plusieurs groupes renommés se sont intéressés à la synthèse des Cts.

⁴⁵ B. E. Maryanoff, H-C. Zhang, M. N. Greco, E. Zhang, P. Vanderhoff-Hanaver, A. Tulinsky, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 3667-3670.

1.5. Synthèses des Cyclothéonamides

Au début de ce travail de thèse, en 2002, cinq synthèses totales des cyclothéonamides CtA ou CtB avaient été publiées dans la littérature par Schreiber⁴⁶, Wipf⁴⁷, Shiori⁴⁸, Ottenheijm⁴⁹ et Maryanoff en collaboration avec Nicolaou⁵⁰. Puis en 2002, Wasserman⁵¹ a publié une synthèse de deux autres membres de la famille, CtE₂ et CtE₃. Nous présenterons ici, ces différentes synthèses dans l'ordre chronologique d'apparition, afin d'analyser les stratégies et de comparer leurs points forts et leurs points faibles. Toutefois, nous pouvons déjà relier toutes ces synthèses par quelques points communs :

- Synthèse en phase liquide (aucun auteur ne décrit l'utilisation de la méthode SPPS) ; Les échantillons de cyclothéonamides obtenus sont purifiés en dernier lieu par HPLC phase inverse.
- Les cinq aminoacides renfermés dans la molécule cible sont tous obtenus sous forme protégée de façon orthogonale avant d'être engagés dans des séquences de couplage peptidique. L'acide V-Tyr est obtenu par homologation de l' α -aminoacide correspondant (Tyr), par des méthodes classiques utilisant des réactifs organophosphorés (Wittig modifié).

Nous analyserons chacune de ces stratégies en quatre temps, commençant d'abord par l'obtention des pentapeptides linéaires à partir des cinq aminoacides (Pro, Dpr, K-Arg, V-Tyr et Xaa). Puis nous examinerons les différentes méthodes de macrocyclisation (le choix des réactifs de couplage et l'emplacement de la cyclisation). Dans un troisième temps nous verrons comment accéder aux Cts à partir du macrocycle pentapeptidique et nous comparerons les synthèses à partir d'un résidu de complexité comparable : la Tyr. Enfin nous focaliserons notre attention sur les différentes méthodes d'obtention du motif K-Arg, ou de

⁴⁶ M. Hagihara, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 6570-6571.

⁴⁷ a) Communication préliminaire : P. Wipf, H.-Y. Kim, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 4275-4278; b) Full paper : P. Wipf, H. Kim, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5592-5594.

⁴⁸ a) Full paper : J. Deng, Y. Hamada, T. Shiori, S. Matsunaga, N. Fusetani, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 1729-1731; b) Full paper : J. Deng, T. Shioiri, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2261-2264.

⁴⁹ a) Communication préliminaire : H. M. M. Bastiaans, J. L. Van der Baan, H. C. J. Ottenheijm, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *33*, 5963-5966; b) Full paper : H. M. M. Bastiaans, J. L. Van der Baan, H. C. J. Ottenheijm, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3880-3889.

⁵⁰ B. E. Maryanoff, M. N. Greco, H. C. Zhang, P. Andrade-Gordon, J. A. Kauffman, K. C. Nicolaou, A. Liu, P. H. Brungs, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1225-1239.

⁵¹ a) Communication préliminaire : H. Wasserman, R. Zhang, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3743-3746; b) Full paper : H. Wasserman, R. Zhang, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6277-6283.

son précurseur α -hydroxyhomoarginine (H-Arg) qui est à la fois la particularité structurale et le motif le plus sensible des Cts.

Ensuite nous présenterons une approche à la synthèse des Cts par Semple et une synthèse d'analogues des Cts réalisée par Maryanoff et coll. En conclusion, nous ferons le bilan des différentes stratégies de synthèse employées pour accéder aux Cts.

1.5.1. Première synthèse totale du CtB par Schreiber

La première synthèse totale d'un Ct a été publiée en 1992 par Schreiber⁴⁶. Le CtB **49** a été obtenu selon un schéma synthétique linéaire partant du résidu Dpr **59** (**Schéma 3**). Le motif Δ Tyr a été créé par vinylogation de l'aldéhyde après réduction de l'amide de Weinreb **57** avec un rendement global sur deux étapes de 89%. Ce dérivé Δ Tyr a ensuite été saponifié en présence de lithine et activé en ester de pentafluorophényle **58** pour être couplé au dipeptide Dpr-Pro **60** avec un rendement en tripeptide **61** de 63%. Le dipeptide **60** a quant à lui été synthétisé à partir du résidu Dpr **59** par couplage avec Pro-OMe suivi de quatre autres étapes de protection et déprotection avec un rendement global de 68%. Le tripeptide **61** a ensuite été développé en pentapeptide linéaire **64** par introduction successive de Phe et du dérivé H-Arg **63**. Ces étapes de couplage ont été réalisées avec des rendements respectifs de 62% et 71% permettant ainsi l'obtention aisée du pentapeptide linéaire **64** (**Schéma 3**).

Par contre la macrocyclisation réalisée par Schreiber entre Pro et H-Arg est sans doute le point faible de cette synthèse. En effet cette macrolactamisation a été faite en quatre étapes successive comprenant une activation en ester de pentafluorophényle à l'aide de DCC **10** avec un rendement global assez faible de 31%. L'obtention du macrocycle **65** semble donc être difficile et on peut se demander si la stratégie de macrocyclisation entre Pro et H-Arg était judicieuse. Plus important, ce problème de macrolactamisation pourrait être dû à la présence de la fonction hydroxyle libre du résidu H-Arg permettant ainsi une réaction parasite de macrolactonisation.

Après macrocyclisation, le CtB **49** a été obtenu en deux étapes avec dans un premier temps l'oxydation de l' α -hydroxyamide de H-Arg en cétoamide à l'aide du périodine de Dess-Martin (DMP) avec un rendement de 74%. Enfin la déprotection simultanée des trois groupements protecteurs des chaînes latérales des résidus K-Arg et V-Tyr (Mtr, Boc et Bn) a été réalisée avec de l'acide trifluoroacétique (TFA) en présence de thioanisole avec un rendement de 58%.

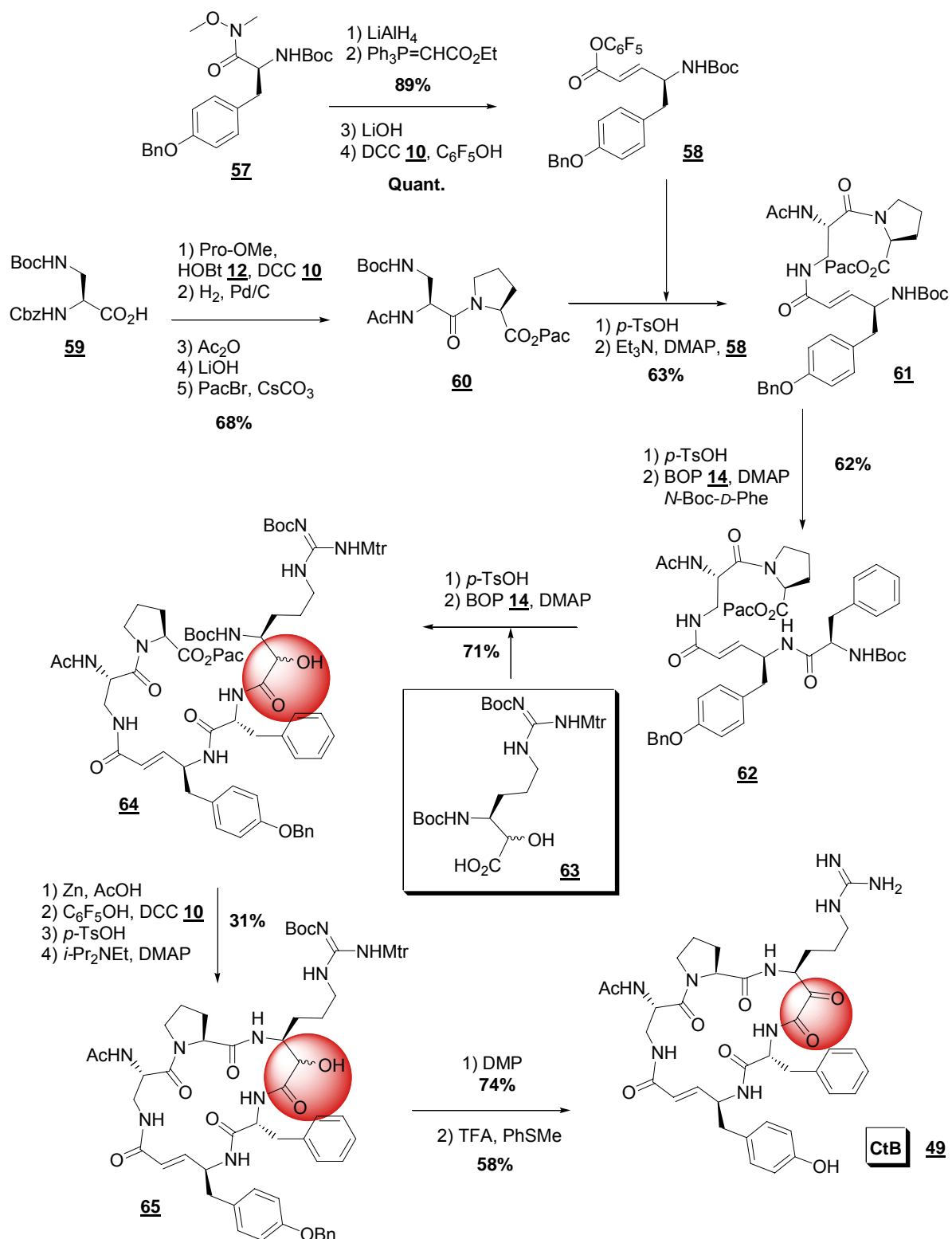


Schéma 3

Observons maintenant plus en détail l'obtention du résidu H-Arg **63**, précurseur du motif K-Arg (**Schéma 4**). Celui-ci a été créé par alkylation d'un argininal issu de la réduction de l'amide de Weinreb **66**, à l'aide l'orthothioformate de méthyle préalablement déprotoné

avec du butyllithium⁵². Cette alkylation conduit au dérivé d'arginine soufré **67** avec un rendement sur deux étapes de 48%. Schreiber et coll. ont ainsi introduit un acide carboxylique masqué qui apparaît après deux étapes successives passant par un intermédiaire thioester hydrolysé par LiOH avec un rendement global de 89%. Les auteurs ont synthétisé le résidu H-Arg **63**, en 4 étapes avec un rendement de 43%, de façon indépendante avant de l'introduire dans le schéma synthétique pour conduire au pentapeptide linéaire **64**. Le résidu H-Arg n'a donc pas été oxydé en K-Arg avant la fin de la synthèse (électrophile puissant vu dans la section I.4), car la fonction α -hydroxyamide a sans doute été considérée par les auteurs comme moins sensible.

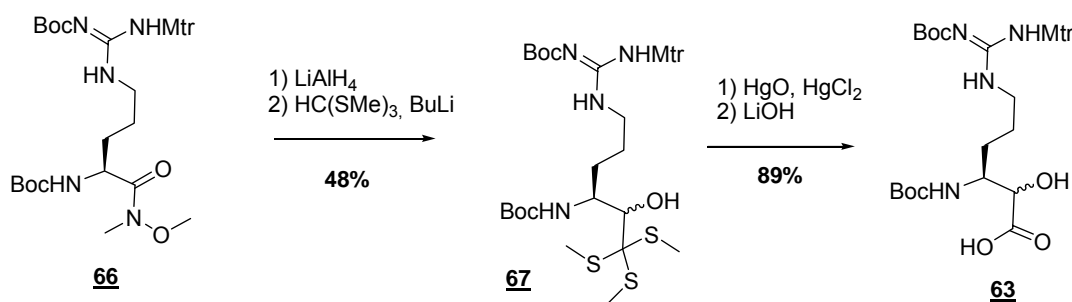


Schéma 4

Cette synthèse du CtB a été conduite en 16 étapes avec un rendement global de 3,3% à partir du dérivé de Tyr **57** (Schéma 3). Ce travail de pionnier a permis la rectification de la configuration absolue du motif V-Tyr du CtB, qui avait été mal attribuée auparavant par Fusetani et coll. ainsi que la détermination de la configuration absolue du résidu K-Arg³³. La stratégie de Schreiber de conserver le résidu H-Arg pendant les étapes de couplage et de ne faire apparaître qu'en fin de synthèse la fonction α -cétoamide de K-Arg a été retenue dans quasiment toutes les synthèses qui ont suivies. Par contre, il faut noter que Schreiber n'a pas protégé la fonction hydroxyle libre du résidu H-Arg, permettant ainsi une réaction parasite de macrolactonisation qui lui a coûté le plus mauvais rendement de 31% pour la macrocyclisation.

I.5.2. Synthèse du CtA par Wipf

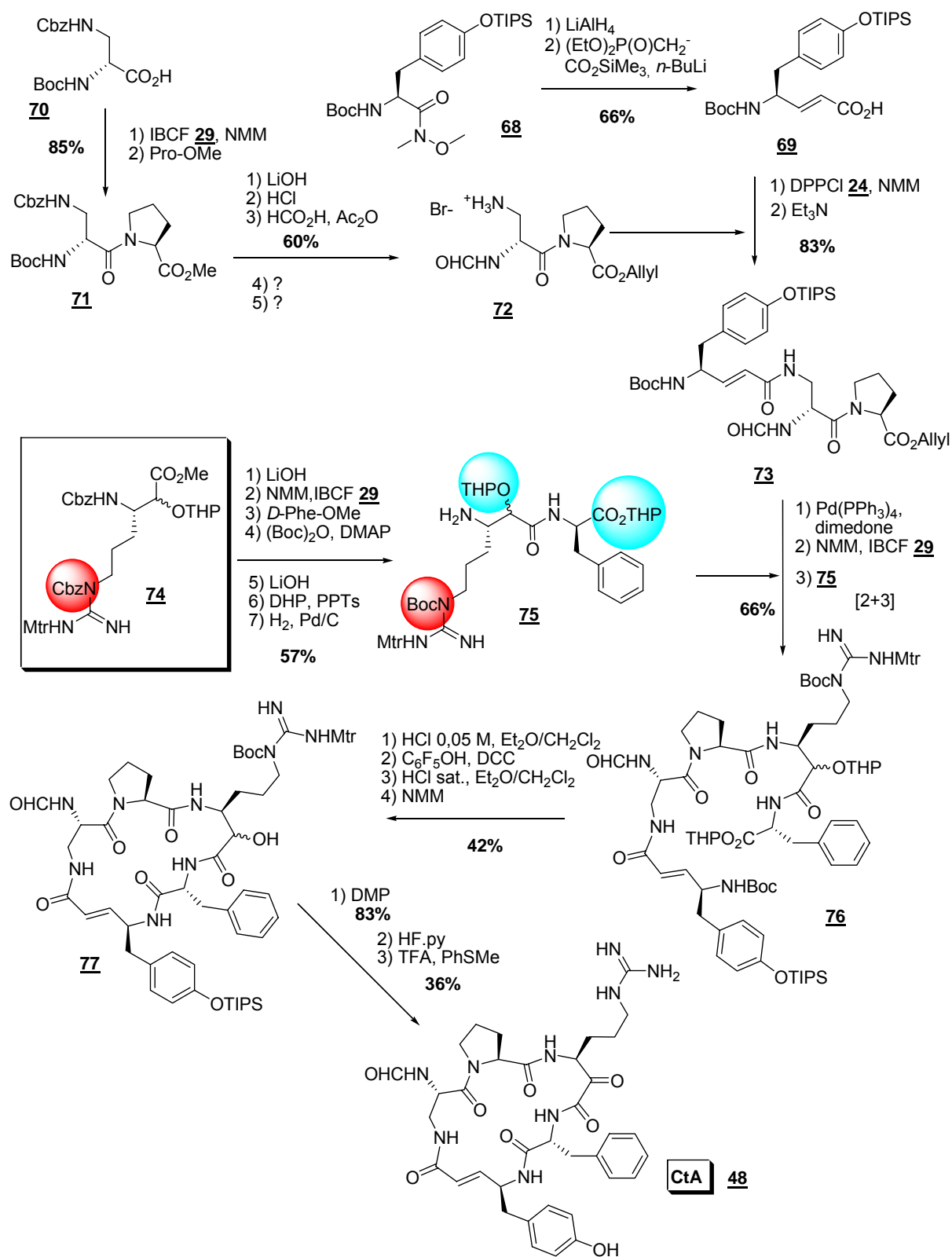
En 1993, Wipf et coll. ont décrit la première synthèse totale du CtA **48** par une stratégie plus convergente basée sur une coupure rétrosynthétique [2+3] (Schéma 5)^{47b}.

⁵² D. Seebach, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1967**, 6, 442-444.

Partant d'un amide de Weinreb dérivé de la Tyr **68** qui a été réduit puis vinylogué par une réaction de Wadsworth-Emmons pour obtenir le motif Δ Tyr **69** avec un rendement de 66%. Le dipeptide Dpr-Pro **72** a probablement été obtenu en 9 étapes à partir du résidu Dpr doublement protégé **70**, mais il nous a été impossible d'en déterminer le rendement. En effet Wipf renvoi à sa communication préliminaire^{47a} pour expliquer l'obtention de **72**, mais les dernières étapes n'y sont pas décrites. Le fragment tripeptidique **73** a été obtenu avec un rendement de 55% en 7 étapes à partir du dérivé de Tyr **68**. Parallèlement, le fragment dipeptidique **75** a été synthétisé en 7 étapes avec un rendement de 57% à partir du dérivé protégé de H-Arg **74**. Lors de cette séquence, le groupement Cbz de l'amine- δ de l'arginine semble avoir été clivé et les auteurs préconisent de reprotéger avec un groupement Boc, qui leur paraît plus stable. Les deux fragments **73** et **75** ont ensuite été couplés entre l'acide de la proline de **73** et l'amine libre de **75** à l'aide du chloroformate d'isobutyle (IBCF, **29**) pour obtenir le pentapeptide linéaire **76** avec un bon rendement de 76%.

L'étape de macrocyclisation a été effectuée entre les résidus V-Tyr et D-Phe (**Schéma 5**). Cette réaction a été réalisée en quatre étapes successives, avec tout d'abord la déprotection sélective de l'ester de tétrahydropyranyle (THP) du composé **76**, suivi de sa transformation en ester de pentafluorophényle par activation avec le DCC. Après déprotection simultanée de l'amine terminale du pentapeptide et de l'éther de THP du motif H-Arg, la macrocyclisation est menée dans des conditions douces en présence d'une base, la *N*-méthylmorpholine (NMM) avec un rendement global de 42%. Notons que l'activation lors de cette macrocyclisation est la même que Schreiber, mais que l'hydroxyle de H-Arg est libérée au dernier moment et simultanément à l'amine, ce qui évite sans doute la réaction de macrolactonisation.

Après la macrocyclisation, l'oxydation de l'alcool au DMP est suivie de deux étapes de déprotection : par HF/pyridine pour le groupement triisopropylsilyl (TIPS), puis par du TFA en présence de thioanisole pour déprotéger la guanidine. La présence de groupements protecteurs de nature différente a imposé en fin de synthèse deux étapes successives de déprotection qui de plus ne se sont pas avérées très efficaces avec un rendement global de 36% (**Schéma 5**).



Nous allons maintenant examiner plus en détail l'obtention du dérivé H-Arg **74**. Dans la communication préliminaire de 1992, Wipf a décrit la synthèse d'un tripeptide contenant la fonction α -hydroxyamide de type H-Arg-Pro-Dpr orthogonalement protégé et a ainsi élaboré une voie d'accès à des composés de type H-Arg à partir de l'amide de Weinreb de l'arginine

protégée **78**^{47a} (**Schéma 6**). L'introduction de la fonction α -hydroxycarbonylée de H-Arg **81** a été réalisée par réduction de **78** en aldéhyde, puis formation de la cyanohydrine **79** avec un rendement sur deux étapes de 63%. Ce dérivé **79** a ensuite été transformé en α -hydroxycétoester **80**, puis protégé par un groupement triéthylsilyle (TES) pour obtenir le résidu **81** avec un rendement global sur 6 étapes de 32%. Cependant l'obtention du dérivé H-Arg **74** impliqué dans la synthèse totale du CtA n'a jamais été décrit par les auteurs.

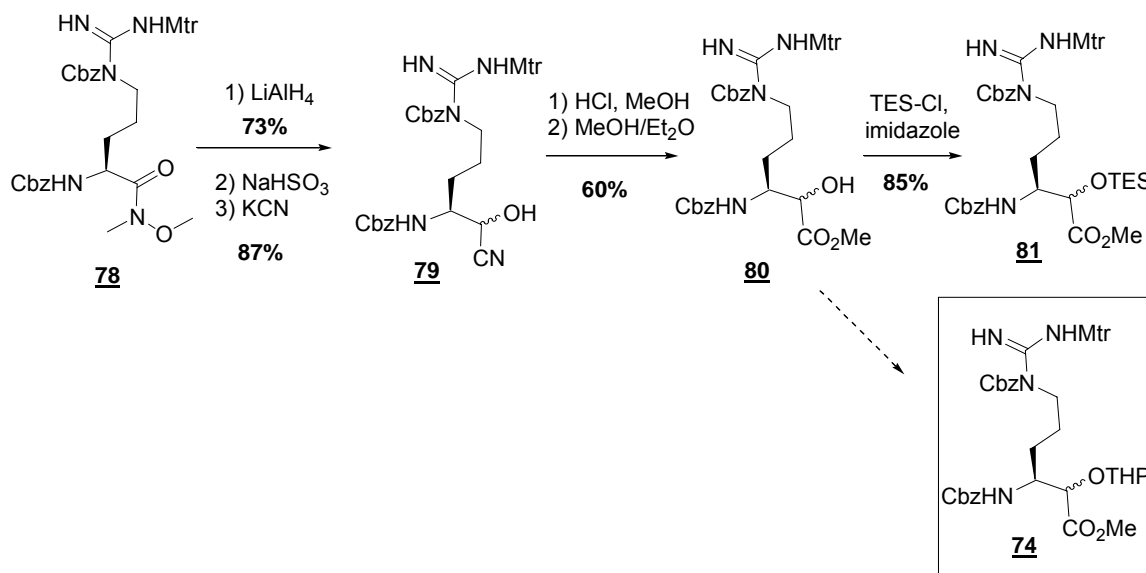


Schéma 6

En conclusion, Wipf et coll. ont réalisé la première synthèse convergente [2+3] du CtA. Cette synthèse a été comparée à celle de Schreiber partant du dérivé de Tyr **68** pour obtenir le CtA avec un rendement global 4,5% en 14 étapes (**Schéma 5**).

En plus de sa nature convergente, plusieurs aspects de cette synthèse ont été mis en avant :

- La double protection des fonctions alcool et acide carboxylique présents dans les composés **75** et **76** sous forme d'éther et ester de (THP) et la saponification sélective de **76** avant la macrocyclisation évitant une éventuelle macrolactonisation.
- La double protection Mtr/Boc de la fonction guanidine introduite par Schreiber, est cette fois portée par les azotes δ et ϵ du résidu H-Arg. Notons que Wipf ne conserve que très peu de temps le Boc sur l'amine- δ , il est remplacé par un Cbz qui semble être plus résistant.
- Enfin l'utilisation d'un groupement protecteur triisopropylsilyl éther (TIPS) sur le phénol du résidu V-Tyr semble être appropriée puisqu'il est conservé sans problème tout au long de la synthèse.

Il est tout de même dommage que l'obtention de certains intermédiaires (**74** et **72**) n'ait jamais été décrite dans son intégralité dans les deux publications de Wipf^{47a,b}.

I.5.3. Synthèses du CtB par Shiori

Deux synthèses de CtB ont été décrites en 1994 et 1996 par Shiori et coll. sur un modèle convergent [2+3] différent, qui apporte quelques nouveautés (**Schéma 7 et 9**)^{48a,b}. Dans la première synthèse, le dérivé de V-Tyr **83** a été obtenu par réduction du dérivé **82** en alcool, suivi d'une oxydation de Swern puis d'une réaction de Wittig avec un rendement global de 72%. Notons que Shiori et coll. ont utilisé de façon systématique le diéthylphosphonocyanidate (DEPC **26**) comme réactif de couplage pour l'introduction de chaque résidu jusqu'à l'obtention du pentapeptide linéaire **88**. Le *N*-Boc-*D*-Phe a ainsi été couplé avec le dérivé **83** après déprotection de l'amine de celui-ci par action d'acide chlorhydrique, pour donner **84** avec un rendement de 91%. Ensuite le dérivé H-Arg **85** a été introduit avec 65% de rendement pour conduire au tripeptide **86**. Le dipeptide **87** a quant à lui été obtenu en trois étapes à partir du dérivé de Dpr **59** et de l'ester triméthylsilyléthyle de la Pro (TMSE) avec un rendement de 85%. Après déprotection sélective appropriée des deux fragments dipeptidique **87** et tripeptidique **86**, l'étape de couplage entre les résidus V-Tyr et Dpr à l'aide du DEPC **26** a permis l'obtention du pentapeptide linéaire **88** avec un bon rendement de 87%. Le pentapeptide linéaire **88** a été isolé sous la forme de deux diastéréoisomères par l'équipe de Shiori. En effet les deux diastéréoisomères **88a** et **88b** ont été séparés et obtenus avec des rendements respectifs de 66% et 21%.

Ainsi l'étape de macrocyclisation a pu être étudiée de façon spécifique sur chaque diastéréoisomères. Dans un premier temps, le pentapeptide linéaire **88a** ou **88b** a été déprotégé du côté *C*-terminal par le fluorure de tétraméthylamonium (TBAF) puis a été placé dans des conditions acides apportées par l'acide *para*-toluènesulfonique (*p*-TsOH) pour éliminer le groupement Boc. Ensuite la macrocyclisation est effectuée à l'aide d'un autre réactif organophosphoré, le pentafluorophényle diphénylphosphinate (FDPP, **28**) qui permet l'obtention *in situ* d'ester de pentafluorophényle dans des conditions douces et en milieu dilué pour conduire au macrocycle **89** avec un très bon rendement (83% à partir de **88a** et 69% à partir de **88b**) sur 3 étapes (**Schéma 7**). Les auteurs ont observé une faible différence de réactivité des deux diastéréoisomères **88a** et **88b**, lors de cette étape de macrocyclisation. En effet, l'effet stérique d'une fonction proche du centre réactif de la macrocyclisation peut avoir une influence sur celle-ci.

Enfin l'étape d'oxydation de l' α -hydroxyamide de H-Arg pour faire apparaître le motif K-Arg et la déprotection finale ont été menées dans des conditions similaires à celles décrites par Schreiber avec un rendement global de 58% (**Schéma 7**).

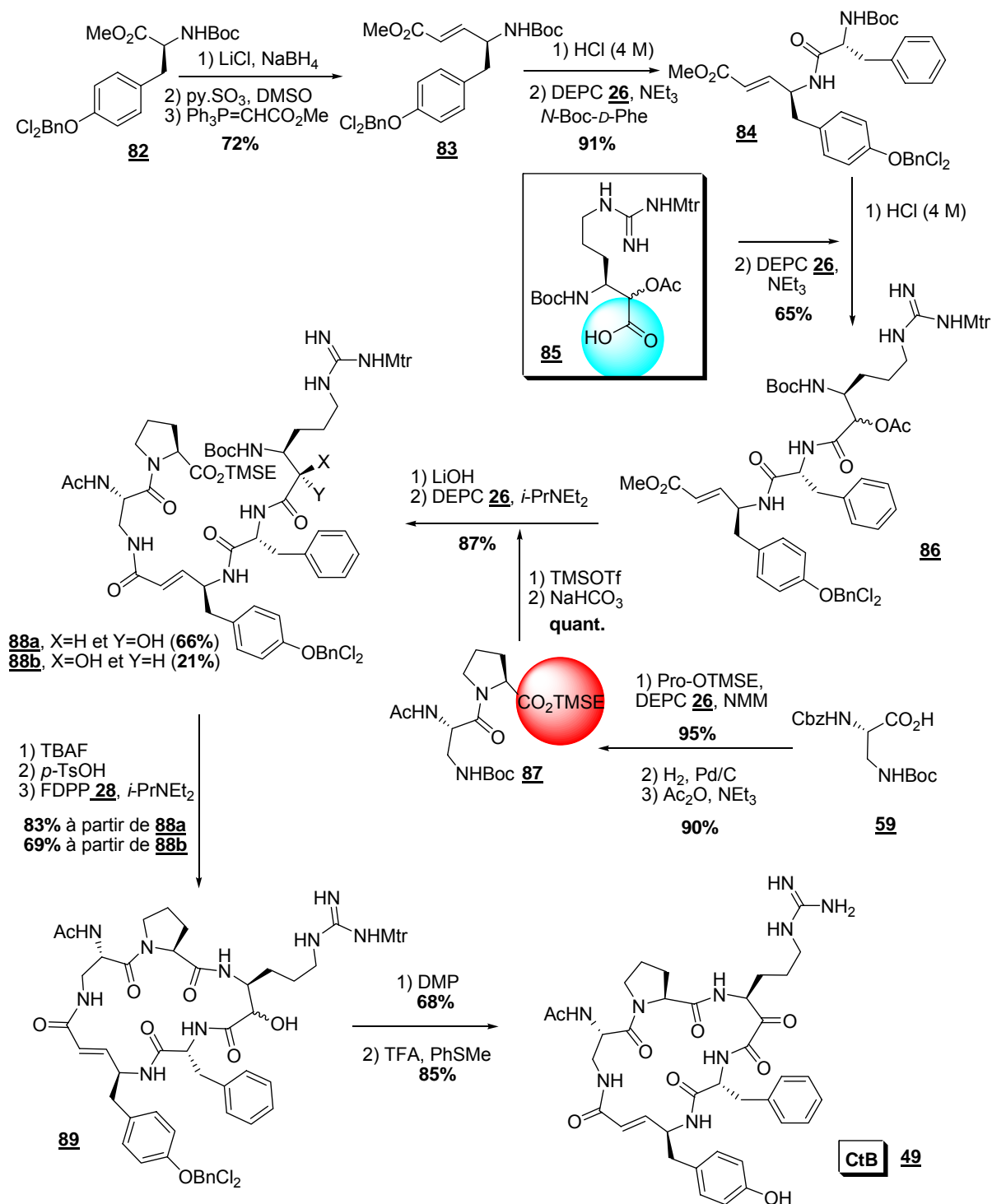


Schéma 7

Pour synthétiser le motif H-Arg **85**, correspondant au K-Arg masqué, la fonction α -hydroxyacide a été introduite par une alkylation de l'amide de Weinreb dérivé de l'arginine

90 à l'aide de furyllithium suivie d'une réduction de la fonction cétone du dérivé **91**, d'une acétylation de l'alcool ainsi obtenu et enfin dégradation oxydante du furane catalysée par le ruthénium(VIII) (**Schéma 8**). Le résidu H-Arg **85** a donc été obtenu par Shiori et coll. en 4 étapes à partir de **90** avec un bon rendement global de 67%.

Notons que l'équipe de Shiori a été obligée de réduire la fonction cétone de **91** (issue de l'alkylation) en alcool et que cette fonction de H-Arg a dû être réoxydée en fin de synthèse pour obtenir le K-Arg du CtB (**Schéma 7**), engendrant des étapes supplémentaires.

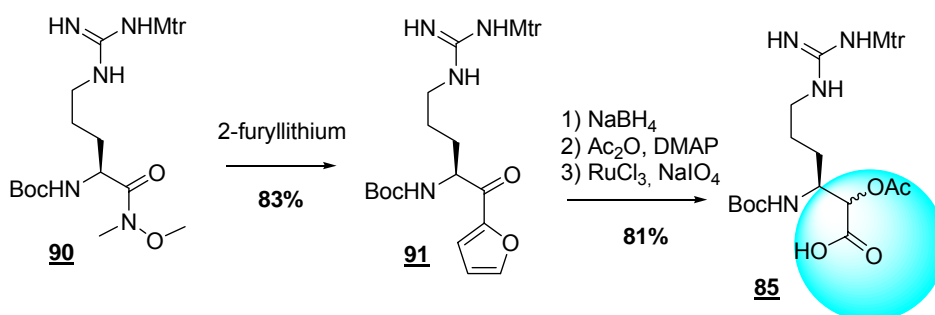


Schéma 8

Dans cette synthèse du CtB Shiori a introduit une nouvelle protection orthogonale du dipeptide **87**, un groupement TMSE et une nouvelle protect du phénol de V-Tyr, par un dichlorobenzyle éther. Plus important, Shiori et coll. ont protégé l'arginine d'une nouvelle façon puisque le motif H-Arg a été mono-protégé sur l'azote-ε par un groupement 2,3,6-triméthyl-4-méthoxybenzenesulfonyle (Mtr). Cette mono-protection de la fonction guanidine semble suffisante et efficace, car les auteurs ne font état d'aucun problème lié à sa réactivité. Par contre la protection de la fonction hydroxyle de H-Arg par un groupement acétate ne s'est pas révélée assez résistante, car elle a été éliminée dès la formation du pentapeptide linéaire **88**. Malgré cela les auteurs ne semblent pas avoir rencontré de problèmes lors de la macrocyclisation (**Schéma 7**). Shiori et coll. ont ainsi obtenu le CtB, **49** avec un rendement global de 16,3% en 14 étapes à partir du dérivé de Tyr **81**, ce qui est bien supérieur aux synthèses précédentes.

Dans la deuxième synthèse en 1996, le même schéma rétrosynthétique [2+3] a été retenu (**Schéma 9**)^{48b}. Par contre quelques modifications très originales ont été apportées notamment au niveau de l'équivalent **92** de H-Arg (**Schéma 9**). En effet, l'arginine a été remplacée par un résidu ornithine (Orn) afin de faire apparaître la fonction guanidine au dernier moment. De plus le motif α -hydroxyamide de H-Orn **92** a été protégé sous la forme d'un dérivé oxazolidine qui offre une protection simultanée de l'amine- α et de l'alcool. Les différentes étapes conduisant au pentapeptides linéaire **95** sont similaires à la précédente synthèse du dérivé pentapeptide **88** (**Schéma 7**), avec des rendements assez proches et qui n'ont sans doute pas été optimisés.

Le pentapeptide linéaire **95** a ensuite été déprotégé sélectivement du côté C-terminal par action du TBAF et du côté N-terminal par ouverture de l'oxazolidine et déprotection simultanée du carbamate (Boc) à l'aide de *p*-TsOH (**Schéma 9**). La macrocyclisation a été menée comme précédemment dans des conditions douces à l'aide de FDPP **28** entre les résidus H-Orn et Pro, pour obtenir le macrocycle **96** avec 57% de rendement.

La principale spécificité de cette synthèse a été l'élaboration d'une chaîne latérale de type arginine à partir d'une ornithine en fin de synthèse. En effet, la fonction guanidine a été apportée en deux étapes par une déprotection de l'amine- δ de **96** à l'aide d'une solution de bromure d'hydrogène dans l'acide acétique suivi par une réaction avec la *N,N'*-di-(*tert*-butoxycarbonyl)thiourée **97** avec un rendement très faible de 23% (**Schéma 9**). Cette tentative n'a pas été très concluante parce qu'elle implique une étape supplémentaire peu efficace. Les deux dernières étapes d'oxydation et de déprotection ont été réalisées dans les conditions décrites précédemment avec un rendement de 75%.



31

coupure oxydante a conduit au dérivé souhaité **92** avec un rendement global faible de 31% en 4 étapes à partir du dérivé de Orn **98** (**Schéma 10**), ce qui est nettement plus faible que pour l'obtention du dérivé H-Arg **84** (**Schéma 8**).

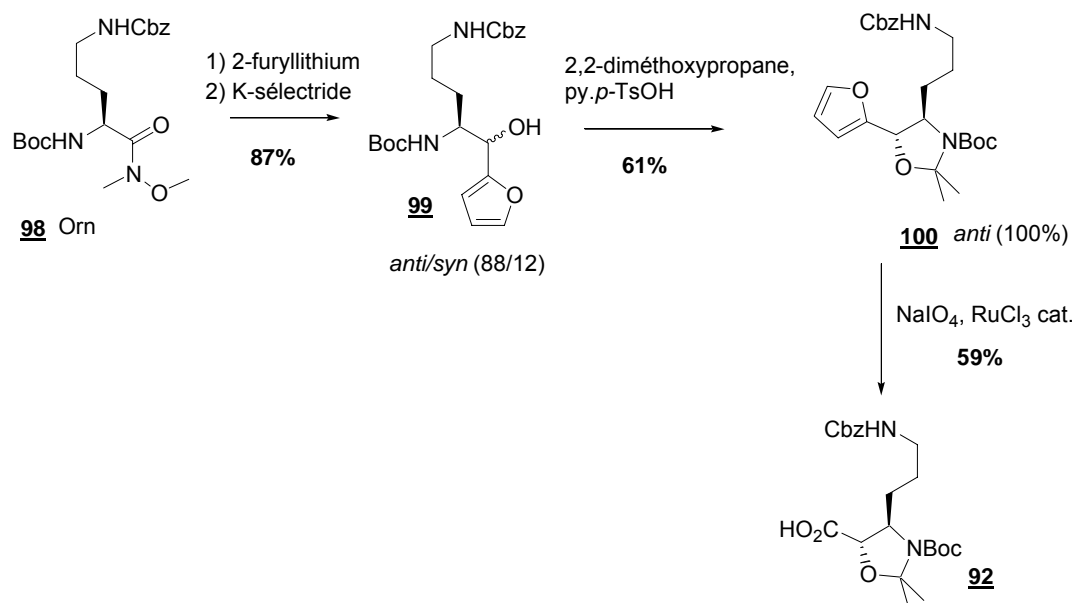


Schéma 10

Le travail de Shiori et coll. par ces deux synthèses assez similaires a amené de nouvelles idées, notamment l'introduction de la guanidine par addition de thiourée sur l'amine- δ du résidu H-Orn. Cependant le mauvais rendement de cette étape fait chuter considérablement le rendement global de cette seconde synthèse de CtB à 3,7% en 16 étapes, ce qui est nettement inférieur à celui de sa première synthèse où le rendement global était de 16,3% en 14 étapes à partir du même dérivé de Tyr **82**. En effet cette première synthèse de Shiori d'un Ct a été l'une des plus brillante, sans doute grâce à l'efficacité de tous les couplages peptidiques utilisant le DEPC **26** (rendements de 65% à 91%) et de la macrocyclisation utilisant le FDPP **28** (un rendement de 76%) (**Schéma 8**). Soulignons aussi la mono-protection de l'arginine par un groupement Mtr qui semble tout à fait adéquate.

1.5.4. Synthèse du CtB par Ottenheim

La synthèse de CtB décrite par Ottenheim est basée sur une nouvelle stratégie convergente [2+3] impliquant le dipeptide **107** et le tripeptide **103** avec une macrocyclisation entre Dpr et Pro^{49a,b}. Le fragment tripeptidique **103** a été synthétisé en 5 étapes à partir du résidu H-Arg **101** avec un rendement global de 47% (**Schéma 11**). Lors de cette séquence, le dérivé **101** a tout d'abord été couplé à l'ester méthylique de la *D*-phénylalanine à l'aide du DCC **10** en présence d'HOBt **12** avec un rendement assez faible de 59%. Puis le troisième acide aminé, la proline protégée sur son azote par un groupement allyloxycarbonyl (Alloc) a été introduit par un couplage utilisant le tétrafluoroborate de benzotriazol-tétraméthyluronium tétrafluoroborate (TBTU, **21**) avec un rendement de 79%. Le fragment dipeptidique **107** a été synthétisé pour sa part en 5 étapes à partir du dérivé de la Tyr protégée **104**, par réduction-vinylogation de **104** (action de DIBAL-H pour fournir l'aldéhyde, puis réaction de Wadsworth-Emmons) suivi d'un couplage avec le dérivé de Dpr **106**. Le dipeptide ainsi obtenu a été déprotégé sélectivement du côté *N*-terminal avec du triflate de triméthylsilyle (TMSOTf) et de 2,6 lutidine pour conduire au dipeptide **107** un rendement global excellent sur cinq étapes de 92%. Ottenheim et coll. ont ensuite apporté quelques soins pour le couplage [2+3] des deux fragments **103** et **107** pour optimiser l'obtention du pentapeptide linéaire **108**. En effet, ce couplage pouvait être parasité par une réaction de lactonisation de **103** entre l'alcool libre de H-Arg et l'acide carboxylique activé de Phe, formant ainsi un cycle thermodynamiquement favorable à 6 chaînons. Ceci a été évité en modifiant l'ordre d'addition des réactifs : le réactif de couplage TBTU a été ajouté en dernier sur un mélange de **103** et **107** dans le CH₂Cl₂, entraînant l'augmentation du rendement du couplage de 73% à 85%.

Après une judicieuse déprotection simultanée des groupements allyliques *C* et *N*-terminaux du pentapeptide **108** à l'aide d'un complexe de palladium(0) (**Schéma 11**), la macrocyclisation entre les résidus Pro et Dpr a elle aussi été effectuée par activation avec TBTU avec un rendement de 61%.

Enfin les deux dernières étapes menant au CtB : l'oxydation à l'aide de DMP et la déprotection utilisant le TFA en présence de thioanisole, ont été réalisées avec des rendements respectifs de 81% et 51%.

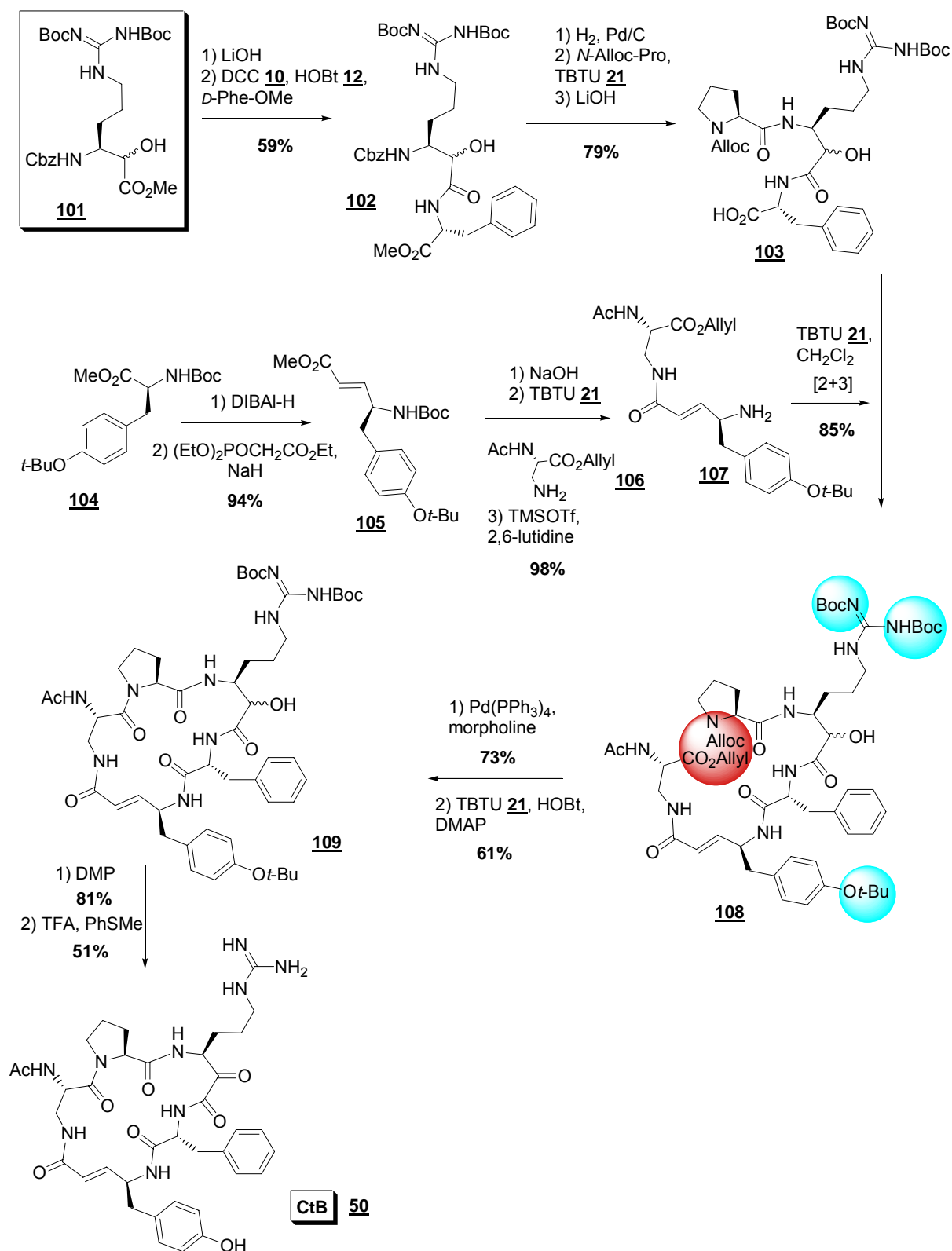


Schéma 11

Le motif H-Arg de **101** a été créé par l'alkylation d'un arginal avec l'orthothioformiate de méthyle, selon la méthode précédemment utilisée par Schreiber et coll.

(Schéma 4)⁴⁶. Le précurseur de l'argininal était l'ester **110** (Schéma 12). Cette préparation en 3 étapes a fourni le dérivé de H-Arg **101** avec un rendement global de 41%.

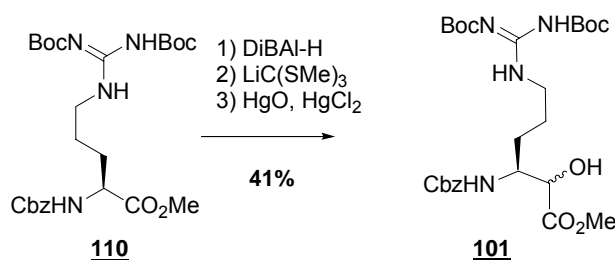


Schéma 12

L'un des points faibles de la synthèse de CtB par Ottenheim a été le couplage peptidique au DCC entre H-Arg **101** et la phénylalanine avec seulement 61 % de rendement (Schéma 11). Par contre, les auteurs ont choisi avec grand soin les protections des différents fragments. En effet, des protections orthogonales très judicieuses ont été utilisées telles que les protections allyliques de l'amine de Pro et de l'acide du Dpr du pentapeptide **108** s'enlèvent simultanément par action de palladium(0) et toutes les chaînes latérales du macrocycle **109** sont protégées par des groupements de type *tert*-butylique s'enlevant par action de TFA en présence de thioanisole lors de la dernière étape. Les auteurs ont également noté qu'il est nécessaire de conserver le phénol de V-Tyr sous forme protégé tout au long de la synthèse et notamment lors de l'oxydation de l' α -hydroxyamide par le DMP. Malheureusement la toute dernière étape de déprotection au TFA-thioanisole pour éliminer tous les groupements protecteurs a été réalisée avec un rendement de 51%, entraînant une baisse conséquente du rendement global de la synthèse. L'équipe d'Ottenheim a tout de même réalisé la synthèse totale du CtB en 10 étapes avec un rendement global de 14,4% à partir du dérivé de Tyr **104** (Schéma 11).

1.5.5. Synthèse des CtA et CtB par Maryanoff et Nicolaou

Les deux équipes de Maryanoff et Nicolaou ont publié le fruit d'un travail commun pour la synthèse des CtA et CtB⁵⁰, suivant la même stratégie d'assemblage du macrocycle [2+3] que celle utilisée par Ottenheim (voir section 1.5.4.). Le couplage [2+3] entre le tripeptide **113** et le dipeptide **117** a donné le pentapeptide linéaire **118** qui a subi une macrocyclisation au niveau des résidus Pro et Dpr (Schéma 13). Cette synthèse est élégante puisque l'utilisation du Dpr avec un groupement protecteur phthaloyle sur l'azote- α permet par un chemin synthétique commun l'obtention des deux produits CtA et CtB, par fonctionnalisation appropriée du Dpr du macrocycle **120** en fin de synthèse.

Le fragment tripeptidique **113** a été obtenu en 4 étapes avec un rendement global de 43% à partir du résidu H-Arg **111** par couplages successifs avec les résidus *D*-Phe-*Or*-Bu et *N*-Fmoc-Pro. Le fragment dipeptidique **117** a quant à lui été synthétisé à partir du dérivé de Tyr **114** en 5 étapes, avec un rendement de 40%. Le dérivé **114** a été réduit par action de DIBAL-H, puis vinylogué avec une réaction de Wittig, avant d'être couplé au Dpr **116** à l'aide d'EDCi **11** en présence d'HOBt **12** avec un rendement de 68%. Afin d'optimiser cette synthèse totale, les étapes de couplage [2+3] entre **113** et **117**, ainsi que la macrocyclisation ont été étudiées avec différents réactifs. Lors de la libération de l'acide carboxylique de **113** par traitement au TFA, l'alcool de H-Arg a été déprotégé et les auteurs ont craint une possible lactonisation pendant l'étape de couplage avec le dipeptide **117**. Cependant celle-ci n'a pas été observée et l'utilisation du chlorure de l'acide bis(2-oxo-3-oxazolidyl)phosphinique (BOP-Cl, **25**) a permis l'obtention du pentapeptide linéaire **118** avec un rendement de 65%. En effet, l'utilisation de l'hexafluorophosphate de benzotriazol-1-yloxytris(diméthylamino)phosphonium (BOP, **14**) pour ce couplage a donné le même pentapeptide **118** avec un meilleur rendement de 75%, mais a engendré une épimérisation du carbone- α de Phe.

Le macrocycle **118** a ensuite été déprotégé successivement par l'utilisation de diéthylamine pour libérer l'amine de Pro puis de TFA pour libérer l'acide carboxylique du résidu Dpr (**Schéma 13**). La macrocyclisation a été largement étudiée par les auteurs avec différents agents de couplage (BOP-Cl **25**, BOP **14**, EDCi **11**, DCC **10**, DPPA **27**...) pour retenir l'utilisation du système DCC **10** /HOBt **12** qui a permis la macrocyclisation avec un rendement global sur 3 étapes de 41%. Lors de la déprotection de l'ester *tert*-butylique du résidu Dpr avec du TFA, les auteurs ont noté une déprotection simultanée de l'éther silylé de V-Tyr, se traduisant par l'obtention d'un deuxième macrocycle pentapeptidique correspondant à **119** mais avec le phénol déprotégé. Ce problème a été résolu par resilylation du phénol.

Ensuite la déprotection du phtalimide (Pht) de l'azote- α du Dpr par action sélective d'hydrazine conduit au macrocycle **120** avec un rendement de 68%. Cette réaction a été un défi pour les auteurs car il a fallu déprotéger l'azote de Dpr sans réduire la double liaison du résidu V-Tyr. L'addition de capteurs d'hydrogène, tel que le cyclohexène, le 4-penténol ou (*Z*)-2-buténol a permis d'éviter l'hydrogénation du macrocycle **120**. Cet intermédiaire clé **120** a été obtenu en 10 étapes à partir du dérivé de Tyr **114** avec un rendement global de 7,3%. Le greffage de différentes chaînes latérales sur l'azote- α du Dpr du macrocycle a permis l'accès aux CtA et CtB (**Schéma 13**). Pour accéder au CtA, le macrocycle **120** a alors été formylé à l'aide du formiate d'éthyle, oxydé par le DMP comme précédemment et enfin déprotégé avec

HF en présence d'anisole avec un rendement global en 13 étapes de 2,1% à partir du dérivé Tyr **114**. Le CtB a quant à lui été obtenu par acétylation du Dpr de **120** avec l'acétate de pentafluorophényle, puis oxydation du motif H-Arg en K-Arg au DMP et déprotection dans les mêmes conditions que pour le CtA, avec un rendement global quasi identique de 2,2% sur 13 étapes à partir de **114** (**Schéma 13**).

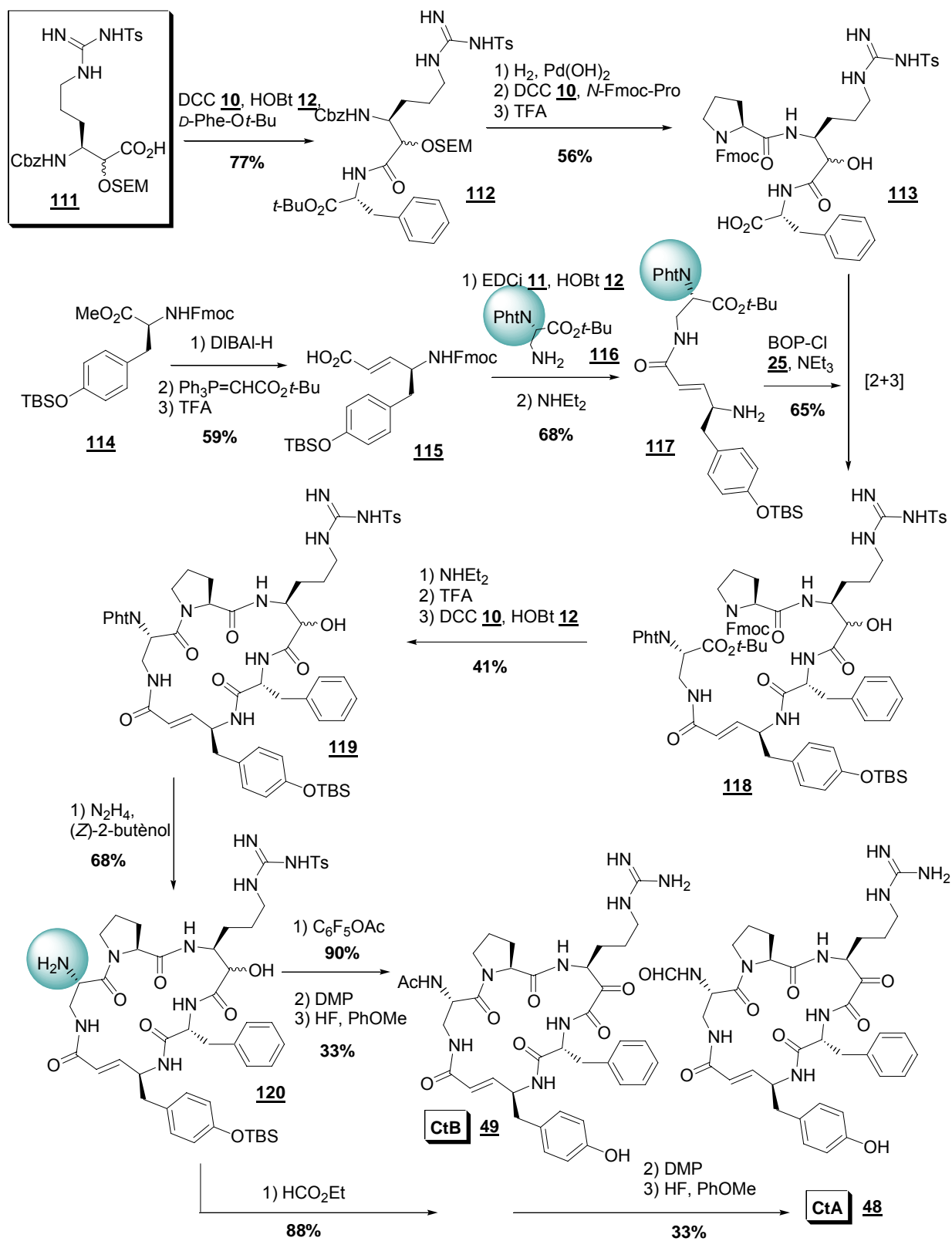


Schéma 13

Le motif H-Arg **111** utilisé dans les travaux de Marayanoff et Nicolaou a l'originalité d'être protégé sur l'azote-ε de la fonction guanidine par un groupement tosyle. Il a été synthétisé de manière assez efficace avec un rendement global de 35% sur 6 étapes à partir de l'arginine **121** (**Schéma 14**). Maryanoff, Nicolaou et coll. ont synthétisé le motif H-Arg par alkylation de l'argininal issu du dérivé **121** par du cyanure de potassium pour obtenir un intermédiaire cyanohydrine. L'α-hydroxycyanohydrine a ensuite été hydrolysée et esterifiée pour conduire au dérivé H-Arg **122**. Celui-ci a ensuite été protégé par un groupement 2-(triméthylsilyl)éthoxyméthyle (SEM) au niveau de l'alcool puis saponifié pour conduire au dérivé H-Arg **111**, prêt à être incorporé dans le schéma synthétique principal (**Schéma 13**).

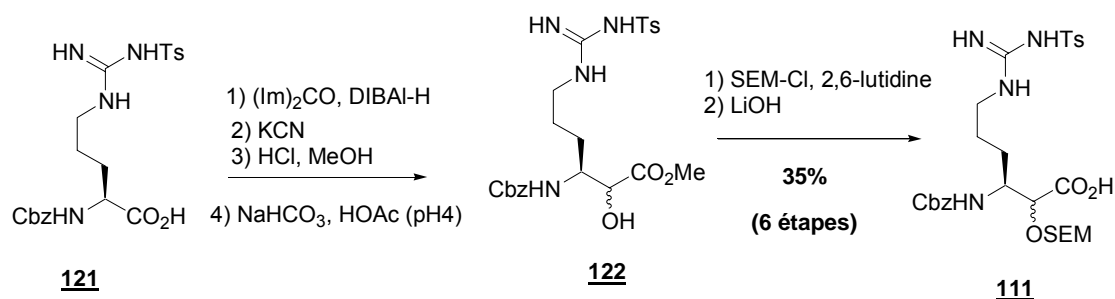


Schéma 14

Un point faible de cette synthèse reconnu par les auteurs concerne les deux dernières étapes : l'oxydation par le DMP puis la déprotection simultanée du phénol silylé et de la guanidine par le mélange HF-anisole qui ont été réalisées au mieux avec 33% de rendement. Par contre, un aspect intéressant de cette synthèse est la protection spécifique de l'azote-α du Dpr par le groupement phtalimide (Pht) qui peut être éliminé sélectivement. Cependant pour les seules synthèses des CtA et CtB, cette protection ne semble pas être bénéfique et particulièrement utile. En effet, cette protection phtalimide du macrocycle **119** qui doit être éliminée pour être remplacée par un formyle ou un acyle alors que dans les synthèses précédentes (I.5.1 à I.5.4) les chaînes latérales avaient été introduites dès le départ sur le résidu Dpr. Cependant cette stratégie peut être intéressante pour la préparation d'analogues non naturels des Cts comme nous le verrons dans la section I.5.8. Concernant le choix des groupes protecteurs, cette synthèse confirme que la monoprotection de la fonction guanidine, cette fois par un groupement tosyle (Ts) est suffisante et que la protection du phénol de V-Tyr en éther silylé, ici un groupement *tert*-butyldiméthylsilyle (TBS) a résisté jusqu'à la dernière étape de déprotection.

I.5.6. Synthèse des CtE₂ et CtE₃ par Wasserman

Pendant nos travaux, Wasserman a publié la synthèse de deux Cts : les CtE₂ et CtE₃, selon une nouvelle stratégie de couplage [2+3] entre le dipeptide **125** et le tripeptide **129** (**Schéma 15**)⁵¹. Cette synthèse est la première décrite qui n'utilise pas un motif α -hydroxyamide comme précurseur de K-Arg ; en effet la stratégie de Wasserman se repose sur une méthode de synthèse directe des α -cétouamides. Cette stratégie apporte donc une économie d'étapes (protection et déprotection de l' α -hydroxyamide ; oxydation de H-Arg en K-Arg), mais amène toutefois un nouveau problème : la réactivité inhérente d'une fonction α -cétouamide (voir section I.4).

Tout au long de leur synthèse, à l'exception de l'étape de macrocyclisation, Wasserman et coll. ont utilisé un seul et unique système de couplage peptidique mettant en jeu EDCi **11** et HOBt **10** (**Schéma 15**). Le dérivé de Tyr **123** a été réduit avec le DBAL-H, puis vinylogué avec un réactif de Wittig pour obtenir **124** avec un rendement sur deux étapes de 81%. Le résidu V-Tyr **124** a été couplé avec *N*-Boc-*D*-Ile pour obtenir un dipeptide qui a par la suite été déprotégé avec du TFA pour obtenir le composé **125**. Ce dernier a donc été synthétisé en 5 étapes à partir de Tyr **123** avec un rendement global de 69%. Le tripeptide **129** a pour sa part été synthétisé en 4 étapes à partir du dérivé protégé de Dpr **127** avec un rendement global de 69%. En effet le Dpr **127** protégé sur l'amine- α par un groupement 2-(triméthylsilyl)éthoxycarbonyl (Teoc), a été couplé avec le Pro-OBn pour obtenir un dipeptide qui a ensuite été hydrogéné pour conduire au dérivé **128** avec un bon rendement de 88%. L'arginine α -cétocyanophosphorane **126** a été déprotégée par action de TFA, puis couplée avec le dipeptide **128** pour obtenir le tripeptide α -cétocyanophosphorane **129** souhaité avec un bon rendement de 78%. Ces deux fragments **125** et **129** ont ensuite été couplés grâce à une méthode originale développée dans le laboratoire de Wasserman depuis plusieurs années. Le tripeptide α -cétocyanophosphorane **129** a été ozonolysé à basse température pour conduire à un intermédiaire très électrophile, non isolé, de type α -cétouacylcyanure. Dans un deuxième temps, l' α -cétouacylcyanure a subi l'attaque de l'amine nucléophile **125** pour obtenir le pentapeptide linéaire **130** avec un excellent rendement de 75% (**Schéma 15**). Notons que pour la première fois un pentapeptide linéaire comportant le résidu K-Arg a donc été synthétisé de manière efficace.

La macrocyclisation a ensuite été effectuée en 4 étapes successives : déprotection de l'ester allylique avec du palladium(0), activation *in situ* de l'acide C-terminal en ester de pentafluorophényle à l'aide de DCC **10**, déprotection de l'amine- β de Dpr avec une solution

saturée de chlorure d'hydrogène dans l'éther puis macrolactamisation en présence de base entre les deux résidus V-Tyr et Dpr pour accéder au macrocycle **131** avec un bon rendement de 61%. Notons que ces 4 étapes n'ont pas affectées le résidu K-Arg.

Cette synthèse est élégante, puisqu'elle permet l'obtention de deux Cts à partir d'un intermédiaire commun comme l'avaient fait Maryanoff et Nicolaou. En effet, l'équipe de Wasserman a choisi l'utilisation du groupement Teoc sur l'amine- α de Dpr plutôt que le phtalimide utilisé par Maryanoff. La déprotection sélective par action de TFA a permis d'obtenir quantitativement le macrocycle **132**, intermédiaire clé sur lequel les deux chaînes latérales *N*-benzoyl-Ala et *N*-valéroyl-Ala ont été introduites avec des rendements respectifs très satisfaisants de **83%** et **85%**. Enfin la déprotection complète des macrocycles par un mélange HF/pyridine en présence d'anisole a conduit aux CtE₂ et CtE₃ avec des rendements globaux de 22,8 et 24,0% en 13 étapes à partir du dérivé Tyr **123** (**Schéma 15**).

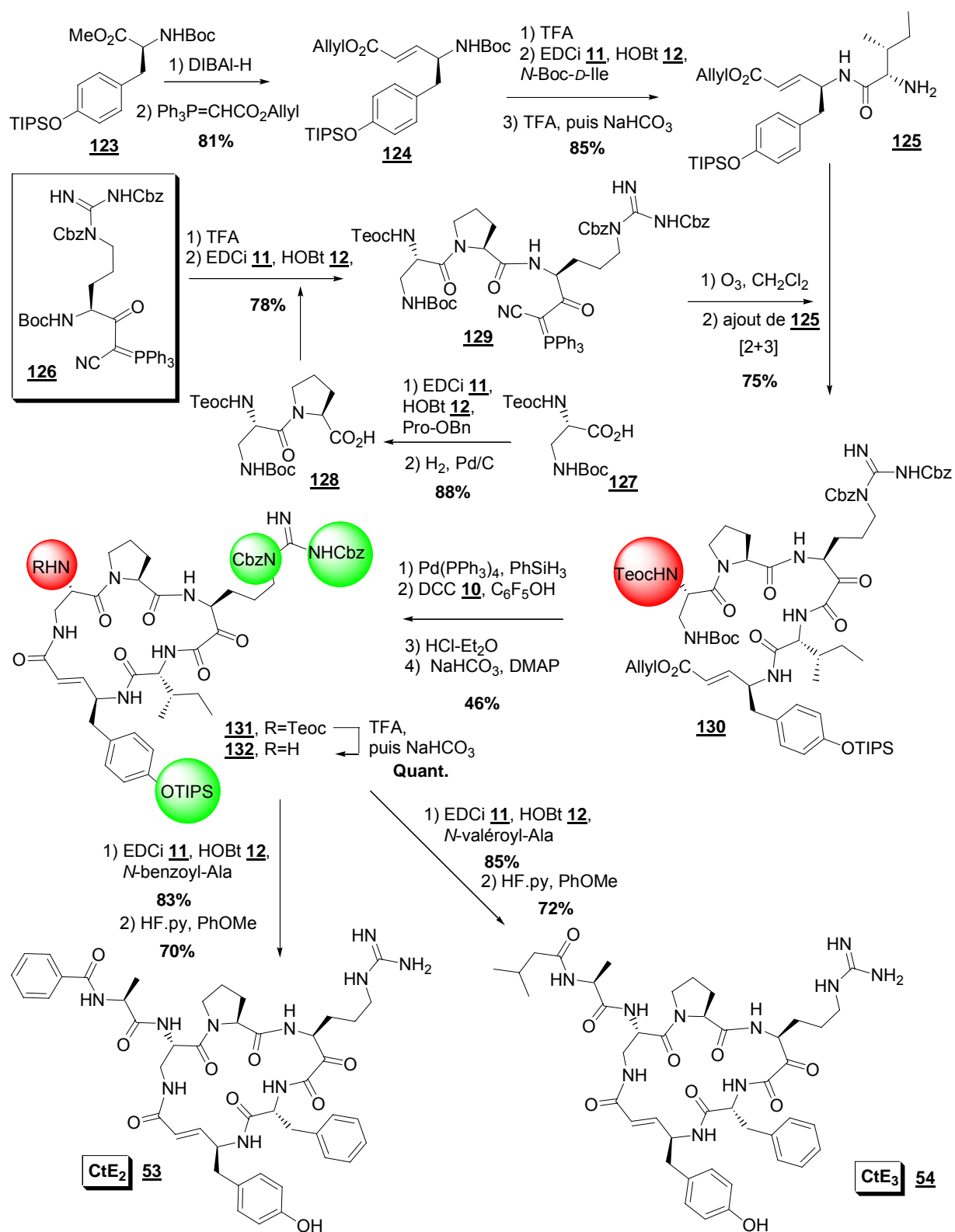


Schéma 15

Dans cette synthèse, le précurseur de K-Arg est l' α -cétocyanophosphorane **126** synthétisé par Wasserman et coll. à partir du dérivé de Arg **133** protégé au niveau de la guanidine par deux groupements Cbz (**Schéma 16**). Contrairement à toutes les synthèses antérieures, l'obtention du précurseur de K-Arg **126** a été réalisée de manière très efficace en une seule étape de couplage avec le triphénylphosphoranylidène-acétonitrile **134** à l'aide d'EDCi **11** en présence d'une quantité catalytique de diméthylaminopyridine (DMAP) avec un rendement de 86%.

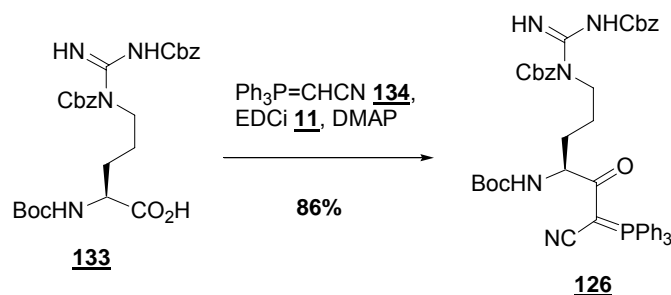


Schéma 16

Notons que l'introduction d'un nouvel aminoacide hydrophobe *D*-Xaa dans cette synthèse (*D*-Ile à la place de *D*-Phe) n'a pas posé de problème. Les rendements globaux de cette synthèse totale laissent penser que cette stratégie [2+3] est efficace (**Schéma 15**). En effet, l' α -cétamide de K-Arg introduit en milieu de synthèse n'a pas nécessité de protection jusqu'à la fin, ce qui est très rentable en terme de nombre d'étape et a permis d'éviter le problème de lactonisation dû au motif H-Arg, évoqué dans les synthèses précédentes lors de la macrocyclisation. Enfin on peut noter que l'introduction d'une nouvelle protection des azotes δ et ϵ de la guanidine par deux benzylcarbammates a été très efficace. En effet, les deux groupements Cbz ont été maintenus tout au long du schéma synthétique et éliminés assez aisément par action d'un mélange HF.pyridine et anisole avec des rendements supérieurs à 70%. Remarquons une nouvelle fois que la protection du phénol du résidu V-Tyr par un éther de triisopropylsilyle est restée en place tout au long de la synthèse, avant d'être enlevée en même temps que les groupements Cbz lors de la dernière étape.

L'utilisation d'un α -cétocyanophosphorane semble tout à fait pertinente puisque Wassermann a réussi une synthèse élégante des CtE₂ et CtE₃ et surtout la synthèse la plus efficace des Cts, avec pour ces deux composés des rendements globaux respectifs de 22,8 et 24,0% en 13 étapes à partir du dérivé Tyr **123** (**Schéma 15**).

1.5.7. Approche des Cts par Semple via la réaction de Passerini

Nous allons maintenant examiner l'approche développée par Semple et coll. pour une nouvelle synthèse totale de Cts. Cette approche semble bien fondée, mais à ce jour elle n'a été appliquée qu'à la synthèse d'un fragment térapeptidique du squelette des CtA et CtB (**Schéma 17**)⁵³. La stratégie est assez éloignée des autres synthèses puisque le précurseur de K-Arg, un α -hydroxyamide, est introduit par une réaction de Passerini⁵⁴ suivi d'un réarrangement. La réaction de Passerini est une réaction multi-composants (RMC)^{55,56,57} à trois réactifs, mettant en jeu : un aldéhyde **136**, un dipeptide isonitrile **139** et un acide carboxylique *N*-Alloc-Pro (**Schéma 17**).

L'argininal **136** a été obtenu par réduction du dérivé amide de Weinreb correspondant **135** par action de l'aluminohydrure de lithium avec un rendement de 74%. Les auteurs décrivent une cyclisation de l'amine- δ de **136** sur l'aldéhyde pour donner **136a**, ce qui démontre bien la nucléophilie de cet azote et sous-entend que le groupement nitro n'est pas une protection suffisante de la guanidine. Cependant selon les auteurs la forme cyclique **136a** et l'aldéhyde **136** seraient en équilibre, permettant ainsi de réaliser la RMC sans problème. Le dipeptide isonitrile **139** a été synthétisé en 5 étapes avec un rendement de 59% à partir du dérivé de Tyr **137**. D'abord, le dipeptide **138** a été préparé de façon quantitative, par couplage à l'EDCi entre le dérivé de Tyr **137** et la *N*-Fmoc-*D*-Phe. Ensuite l'isonitrile **139** a été obtenu par déprotection puis formylation de l'amine du dipeptide **138**, suivi d'une déshydratation du groupement formyle à l'aide de phosgène libéré *in situ* à partir du trichlorométhyle chloroformiate avec un rendement global de 59% (**Schéma 17**).

La RMC entre l'aldéhyde **136**, le dipeptide isonitrile **139** et la *N*-Alloc-Pro a permis l'obtention directe du téradepsipeptide **140** avec un bon rendement de 59%. Le depsipeptide **140** a ensuite été déprotégé au niveau de amine- α porteur du groupement Boc à l'aide d'une solution de chlorure d'hydrogène dans le méthanol. Sous l'action de la triéthylamine, l'amine ainsi libérée a attaqué intramoléculairement l'ester vicinal, ce qui a induit une réaction de trans-acylation. Le térapeptide linéaire **141** a été obtenu avec un excellent rendement de 98%. Ce réarrangement se fait de manière irréversible et fait ainsi apparaître de façon très efficace le motif α -hydroxyamide de H-Arg dans le térapeptide **141** (**Schéma 17**).

⁵³ T. D. Owens, J. E. Semple, *Org. Lett.* **2001**, 3, 3301-3304.

⁵⁴ M. Passerini, *Gazz. Chim. Ital.* **1921**, 51, 126-129.

⁵⁵ *Revue* : A. Dömling, I. Ugi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 3168-3210.

⁵⁶ J. Zhu, H. Bienaymé, *Multicomponents Reactions* **2005**, Wiley-VCH, New-York.

⁵⁷ L. Banfi, R. Riva, *Org. React.* **2005**, 65, p 1-140.

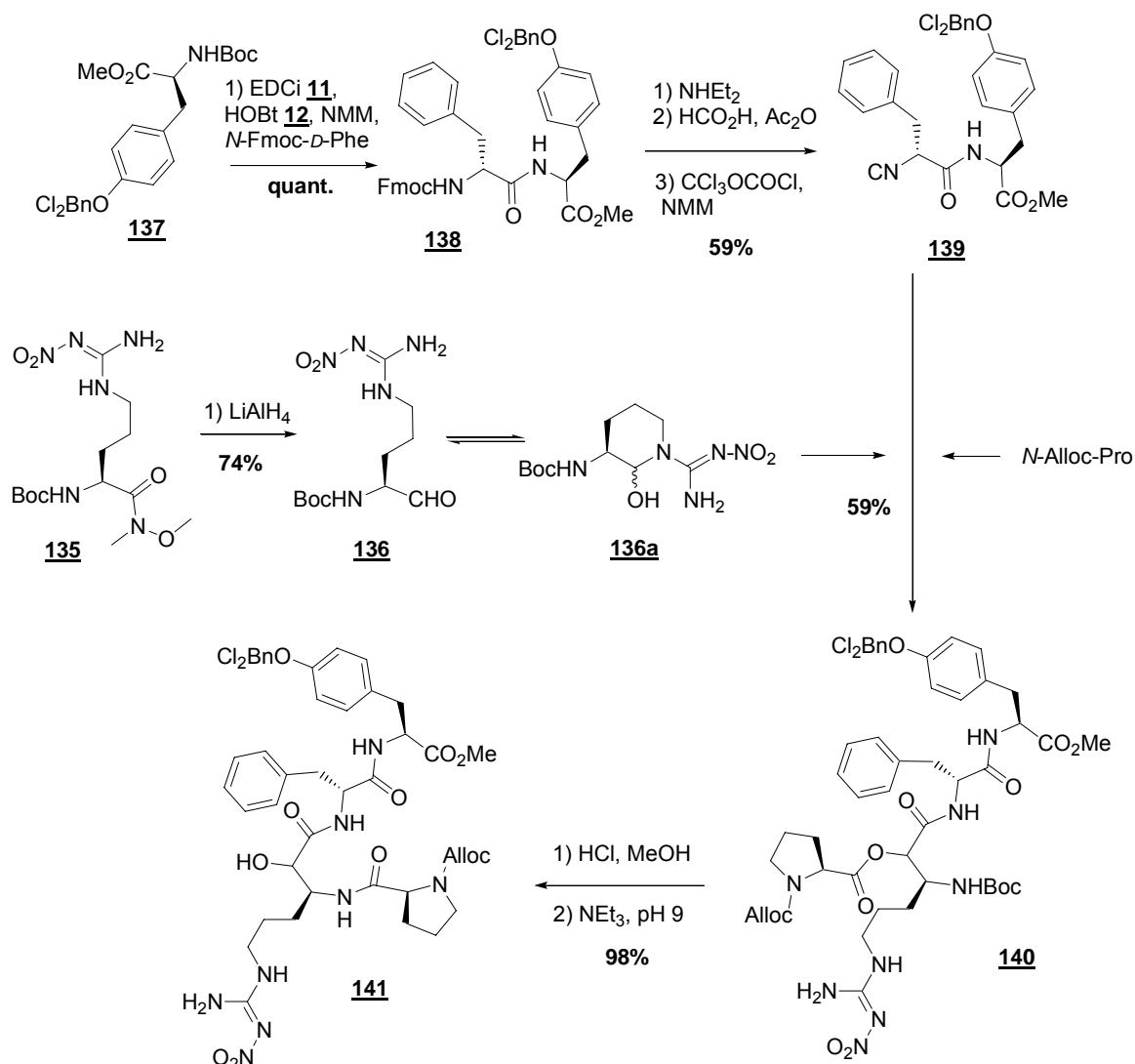
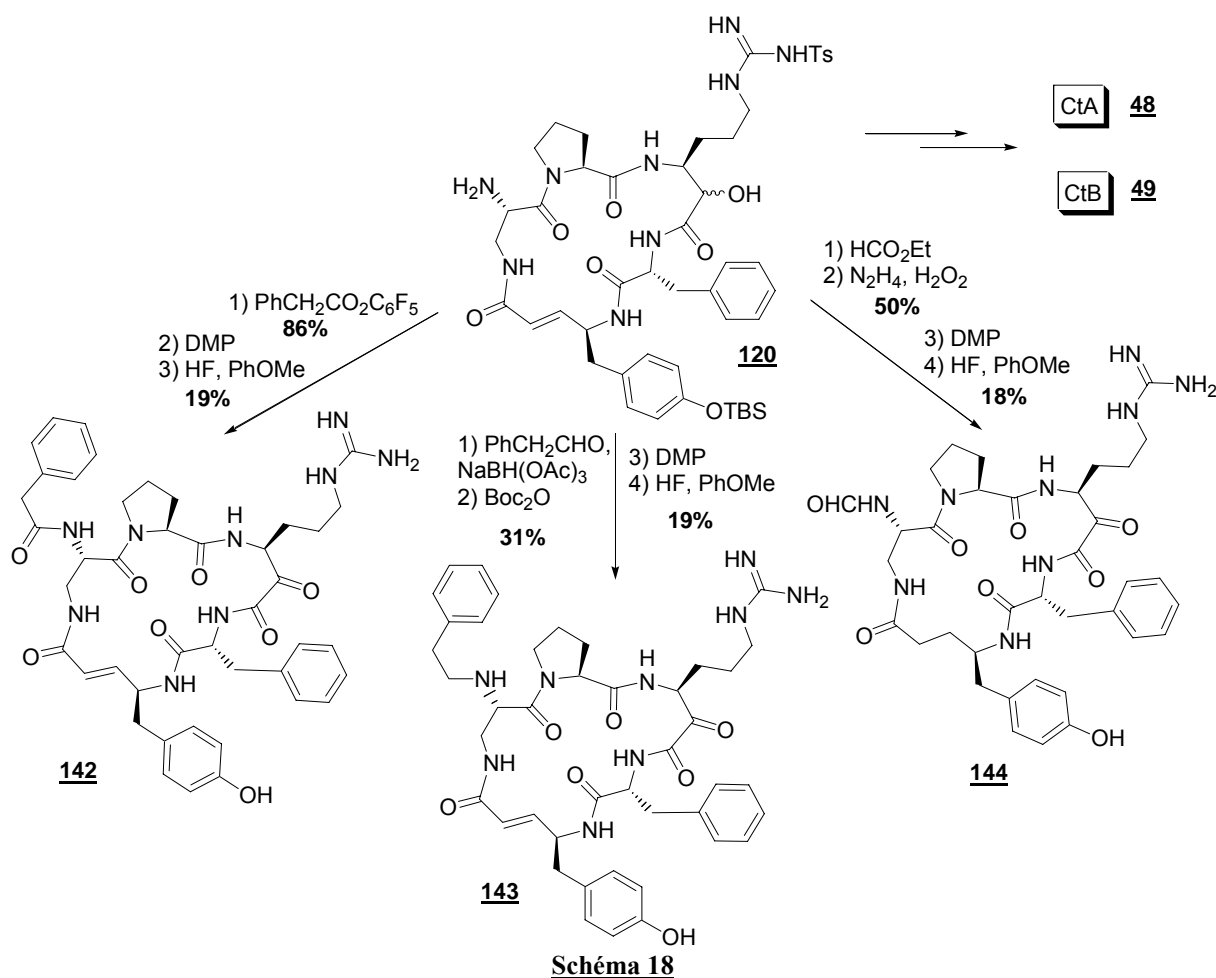


Schéma 17

Cette synthèse, bien qu'élégante, n'a pas été menée à son terme, car les aminoacides utilisés n'ont pas été élaborés préalablement. En effet, il faudrait pour synthétiser les CtA et CtB élaborer le résidu V-Tyr correspondant au résidu **137** avant de l'introduire. Semple a repris comme protection du phénol de Tyr, le dichlorobenzyle éther introduit par Shiori (Section I.5.3) qui n'avait pourtant pas semblé être le groupement protecteur le plus judicieux et il a introduit une nouvelle protection de l'arginine par un groupement nitro sur l'amine-ε qui pourrait être difficile à éliminer. Semple et coll. ont sans doute voulu tester la faisabilité de cette méthode originale utilisant la RMC de Passerini sans pour autant chercher à finaliser la synthèse d'un Ct. Toutefois, cette stratégie demeure intéressante, car elle semble efficace et convergente pour l'obtention du motif H-Arg et la construction du squelette des Cts.

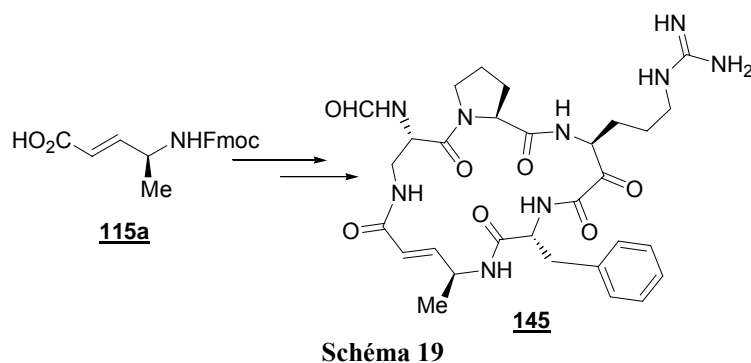
I.5.8. Synthèse d'analogues de Cts

En parallèle de son travail avec Nicolaou, Maryanoff a développé une stratégie d'accès à des structures macrocycliques de type Ct pour réaliser une étude structure-activité à visée anti-thrombotique. En effet l'astucieuse stratégie qui a permis à Maryanoff et Nicolaou de synthétiser les CtA et CtB⁵⁰ en utilisant le groupement phthalimide comme protection de Dpr a également permis de greffer d'autres chaînes latérales sur l'azote- α de ce dernier, pour obtenir des analogues de Cts, **142-144** (**Schéma 18**)⁵⁸. L'introduction des chaînes latérales de **142-144** a été réalisée sur le macrocycle **120**, intermédiaire clé qui a été décrit précédemment (voir section I.5.5) avec des rendements corrects. Par contre, l'ajout d'un certain nombre d'étapes après macrocyclisation diminue de façon importante le rendement global pour l'obtention de ces analogues. De plus, nous constatons une nouvelle fois que les deux dernières étapes d'oxydation et déprotection se sont déroulées avec un rendement faible.



⁵⁸ B. E. Maryanoff, H-C. Zhang, M. N. Greco, K. A. Glover, J. A. Kauffman, P. Andrade-Gordon, *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, 3, 1025-1038.

La synthèse du composé **145** a été réalisée selon un schéma synthétique et des rendements quasi similaires aux précédentes synthèses (voir **Schéma 13**)⁵⁰, avec comme unique modification le remplacement du résidu V-Tyr **115** par V-Ala **115a** (**Schéma 19**).



En 1997, Maryanoff et coll. ont déposé un brevet, dans lequel ils décrivent la synthèse de façon assez succincte de nombreux dérivés macrocycliques ayant une activité inhibitrice sur différentes sérine protéases (**Figure 14**)⁵⁹. La plupart de ces molécules (**146**, **148**, **150**...) ont une fois encore été obtenues par des synthèses assez similaires à celles des Cts à l'aide du dérivé H-Arg **111** (**Schéma 13** section I.5.5) mais ces macrocycles ont des structures de plus en plus éloignées de celles des Cts. En effet, le macrocycle **147** ne possède plus le motif K-Arg et le tétrapeptide **148** et les macrocycles **149** et **150** possèdent un nombre de chaînons (respectivement 17 et 20) différents des Cts.

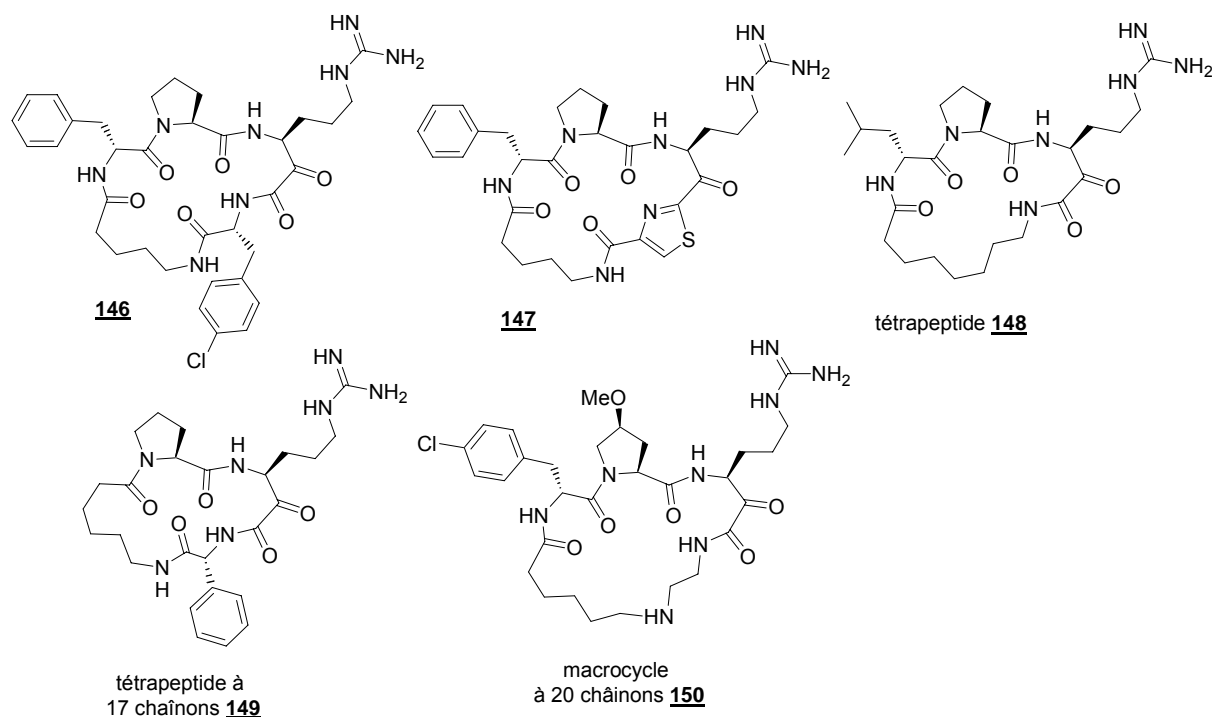


Figure 14. Structures macrocycliques synthétisées par Marayanoff et coll.

⁵⁹ M. N. Greco, B. E. Maryanoff, PCT Int. Appl. **1997**, pp 118.

I.5.9. Bilan des différentes synthèses des Cts

Jusqu'à aujourd'hui, sept synthèses de Cts ont été décrites par six auteurs différents selon des stratégies assez variées (**Tableau 3**). Si l'on compare le travail des équipes de Schreiber et Shiori qui réalisent la macrocyclisation au même niveau (**Tableau 3, entrées 1 et 3**) nous constatons que la synthèse convergente du deuxième auteur est nettement plus avantageuse qu'une synthèse linéaire. De plus, cette synthèse est l'une des plus efficaces notamment grâce à l'obtention efficace du dérivé H-Arg **84** avec 67% de rendement ; ce qui est l'un des points cruciaux de chaque synthèse de Cts. Par contre, la seconde synthèse du CtB par Schiori a été un relatif échec, avec un rendement de 3,7% sur 16 étapes, dû en partie à l'introduction du motif guanidine sur l'ornithine en fin de synthèse avec rendement faible de 23% (**Tableau 3, entrée 4**).

Notons que la première synthèse du CtA par l'équipe de Wipf en 14 étapes avec un rendement modeste de 4,5% a fait appel à une nouvelle approche de macrocyclisation entre V-Tyr et D-Phe en utilisant, comme Schreiber, un ester activé de pentafluorophényle qui s'est avérée assez efficace avec un rendement de 42% (**Tableau 3, entrée 2**).

Comparons maintenant les travaux de l'équipe de Ottenheijm et celles de Maryanoff et Nicolaou (**Tableau 3, entrées 5 et 6**) utilisant exactement la même synthèse convergente et une macrocyclisation entre Pro et Dpr. Nous remarquons la grande efficacité du réactif de couplage de type uronium, TBTU **21** par rapport au carbodiimide DCC **10** pour la macrocyclisation. En effet, Ottenheijm a réalisé l'une des synthèses les plus efficaces en 14 étapes avec 16,3 % de rendement, notamment grâce au soin apporté aux groupements protecteurs des différents aminoacides. Le choix des groupements allyliques C et N-terminaux coupés simultanément avant la macrocyclisation a été judicieux et la protection de toutes les chaînes latérales par des groupements *tert*-butyliques s'est avérée très efficace. Pour sa part, la synthèse de Maryanoff et de Nicolaou des CtA et CtB n'a pas eu un grand succès (respectivement 2,1% et 2,2 % de rendement global) mais a apportée comme nouveauté la protection orthogonale de l'amine- α du Dpr par un phthalimide permettant ainsi l'introduction de différentes chaînes exocycliques (voir section I.5.8). Cette stratégie s'est avérée très intéressante pour la synthèse d'analogues de Cts.

Enfin la synthèse de Wasserman et coll. est la plus brillante. En effet, les deux CtE₂ et CtE₃ ont été obtenus en un nombre d'étapes quasi similaire aux autres synthèses, mais avec des rendements excellents de 22,8% et 24%. La grande efficacité de ces synthèses réside dans l'obtention du motif K-Arg. En effet, d'une part le résidu précurseur de K-Arg, l' α -

cétocyanophosphorane **126** a été obtenu en une seule étape avec un rendement de 86% et d'autre part sa transformation en K-Arg par réaction d'ozonolyse s'est avérée très efficace.

Tableau 3. Bilan des différentes synthèses de Cts

| Entrée | CtX | Auteurs | Obtention de H-Arg (Rdt) | Macrocyclisation | | Bilan* : Rdt (nb d'étapes) |
|--------|----------------------------------|--------------------------|-----------------------------|----------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| | | | | Résidus | Réactifs (Rdt) | |
| 1 | B | Schreiber | 63 (43%) | H-Arg-Pro | pentafluorophénol, DCC (31%) | 3,3% (15) |
| 2 | A | Wipf | 74 (**) | V-Tyr- <i>D</i> -Phe | pentafluorophénol, DCC (42%) | 4,5% (14) |
| 3 | B | Shiori (1) | 85 (67%) | H-Arg-Pro | FDPP (76%) | 16,3% (14) |
| 4 | B | Shiori (2) | H-Orn 92 (31%) | H-Orn-Pro | FDPP (57%) | 3,7% (16) |
| 5 | B | Ottenheijm | 101 (41%) | Pro-Dpr | TBTU, HOBt (61%) | 14,0% (10) |
| 6 | A et B | Maryanoff et Nicolaou | 111 (35%) | Pro-Dpr | DCC, HOBt (41%) | 2,1% et 2,2% (13) |
| 7 | E ₂ et E ₃ | Wasserman | “K-Arg” 126 (86%) | Dpr-V-Tyr | pentafluorophénol, DCC (61%) | 22,8% et 24,0% (13) |

* Rendements globaux et nombre d'étapes calculés par rapport au résidu Tyr.

** Rendement non spécifié par les auteurs.

Les choix des groupements protecteurs sur les chaînes latérales des différents aminoacides constitutifs des Cts est très important. C'est pourquoi nous les avons répertoriés dans le **Tableau 4**. Si nous comparons les **Tableaux 3 et 4**, les groupes de Shiori, Ottenheijm et Wasserman qui ont réalisé les synthèses des Cts les plus brillantes, ont également réalisé les étapes finales de déprotection les plus efficaces.

Les protections de K-Arg (par un Mtr) et de V-Tyr (par un éther de dichlorobenzyle) introduites par Shiori, ont été appropriées et facilement éliminées en fin de synthèse avec un excellent rendement de 85%.

Dans la synthèse de Ottenheim, la protection des deux résidus K-Arg et V-Tyr par des groupements *tert*-butyliques s'est avérée très efficace mais leurs coupures en fin de synthèse a été assez décevantes (rendement de 51%).

Enfin, les groupements protecteurs utilisés par Wasserman et coll. semblent être très bien adaptés à l'obtention des Cts, puisque la double protection par des Cbz du motif K-Arg, a parfaitement joué son rôle et que le groupement protecteur silylé TIPS du résidu V-Tyr a été éliminé en même temps que les groupes Cbz avec un excellent rendement de 70%.

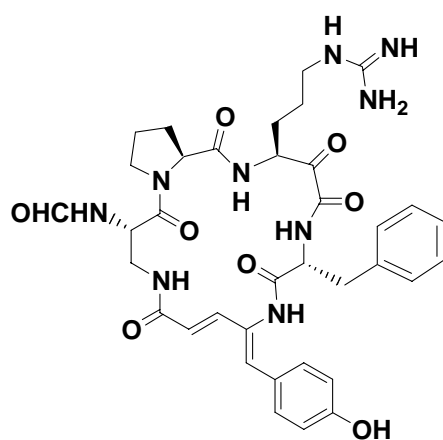
Tableau 4. Différents groupements protecteurs des résidus K-Arg et V-Tyr

| Groupements protecteurs des résidus | Schreiber | Wipf | Shiori | Ottenheim | Maryanoff et Nicolaou | Wasserman |
|-------------------------------------|------------|------------------------|-------------------|--------------|-----------------------|--------------|
| K-Arg | Boc et Mtr | Boc et Mtr | Mtr | di-Boc | Ts | di-Cbz |
| V-Tyr | Bn | TIPS | BnCl ₂ | <i>t</i> -Bu | TBS | TIPS |
| Réactifs de déprotection | TFA, PhSMe | HF.py, puis TFA, PhSMe | TFA, PhSMe | TFA, PhSMe | HF, PhOMe | HF.py, PhOMe |
| Rdt (nb d'étapes) | 58% (1) | 36% (2) | 85% (1) | 51% (1) | 33% (1) | 70% (1) |

En conclusion, l'étude des différentes synthèses ne met pas en avant une stratégie privilégiée pour l'obtention des Cts. Par contre, chaque voie de synthèse nous apporte des informations importantes sur le choix des disconnexions, des groupements protecteurs et des réactifs de couplage qui vont nous aider à aborder notre objectif qui sera présenté dans le chapitre suivant : élaborer des stratégies de synthèse du CtC.

Chapitre II.

Les Stratégies de synthèse du Cyclothéonamide C



II.1. Synthèse du CtC selon trois différentes approches

Le projet de recherche qui m'a été confié par le professeur D. J. Aitken en 2002 était la première synthèse totale du CtC (**Figure 15**). Le CtC est un pentapeptide macrocyclique constitué d'un aminoacide protéinogénique : la *L*-proline (**Pro**), mais aussi de quatre autres aminoacides non protéinogéniques originaux : l' α -céto-*L*-homoarginine (**K-Arg**) ; le vinylogue de la *L*-déshydrotyrosine (**V- Δ Tyr**) ; la *D*-phénylalanine (**D-Phe**) et l'acide *L*- α,β -diaminopropionique (**Dpr**) comportant un groupement formyle sur l'amine- α . Le CtC a une structure assez proche de celle du CtA mais il est l'unique membre de la famille des Cts à posséder un motif vinylogue de la *Z*-déshydrotyrosine (**V- Δ Tyr**). Notre molécule cible, le CtC a été isolé en 1995, par Fusetani³⁴, dans un premier temps par des extractions successives de l'éponge *Theonella swinhoei* avec de l'éthanol et du *n*-butanol, puis par purification par chromatographies sur résine Sephadex et sur silice phase inverse (ODS et HPLC C₁₈).

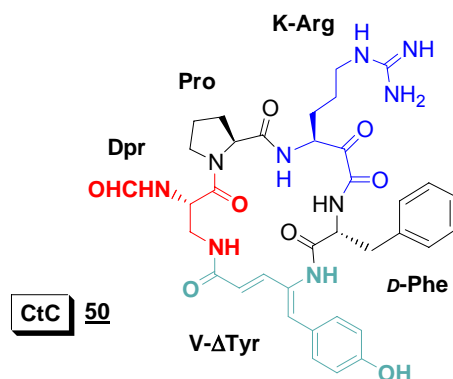


Figure 15. Structure de cyclothéonamide C

La synthèse totale du CtC semble primordiale, car le rendement très faible de cet isolement n'a pas permis de nombreux tests biologiques (**Tableau 2** section I.4) et l'originalité structurale du CtC représente un réel défi synthétique. De plus, la synthèse permettra la confirmation univoque de la structure du macrocycle décrite par Fusetani et notamment de la configuration *Z* du résidu V- Δ Tyr. En effet, l'analyse de la structure du macrocycle CtC par Fusetani et coll. n'est pas complète³⁴. Le motif α -cétohomarginine (**K-Arg**) qui est la principale spécificité des Cts n'a pas été observé sur le spectre RMN ¹³C. De plus le CtC n'a pas été isolé pur puisqu' il est décrit en mélange avec un autre composé par observation du spectre RMN ¹H (dédoublément des pics au niveau de l'insaturation du motif

V- Δ Tyr \sim 6,2 ppm). Ces deux points devraient faire l'objet d'une attention particulière lors des analyses spectrales d'un échantillon de CtC synthétique.

La synthèse du CtC présente trois défis particuliers qui résident dans la préparation des trois aminoacides non protéinogéniques Dpr, V- Δ Tyr et K-Arg (**Figure 15**). Plusieurs synthèses de Dpr sont répertoriées dans la littérature et nous élaborerons l'accès à ce motif avec grand soin afin de rendre son obtention simple et rapide. En revanche, à notre connaissance le motif V- Δ Tyr n'a jamais été synthétisé. Son élaboration nécessitera une étude approfondie. Enfin, comme nous venons de le voir au travers des synthèses des Cts dans le premier chapitre, la fonction α -cétoamide de K-Arg est la partie considérée comme étant la plus sensible de ces macrocycles. Les différentes approches du CtC dont nous allons discuter dans ce manuscrit sont liées par la même question : Comment faire apparaître le motif K-Arg ?

Pour répondre à cette question nous avons retenu trois différentes stratégies faisant intervenir, comme étape clé, un couplage entre un peptide nucléophile et un peptide électrophile [Nu+Elec] pour créer le motif α -cétoamide de K-Arg ou son précurseur α -hydroxyamide H-Arg dans un enchainement peptidique linéaire (**Figure 16**). Dans ce contexte, nous avons trouvé utile de désigner une réaction de couplage de type [x+y], où **x** est le nombre de résidus d'aminoacides apportés dans le peptide **nucléophile**, et **y** est le nombre de motifs aminoacides présents dans le partenaire **électrophile**. Chacune des approches envisagées pourraient mettre en jeu des nucléophiles dipeptide ou térapeptide avec des électrophiles de types aminoacide ou tripeptide dans des couplages variés [2+1], [2+3] ou [4+1] pour obtenir les peptides linéaires souhaités.

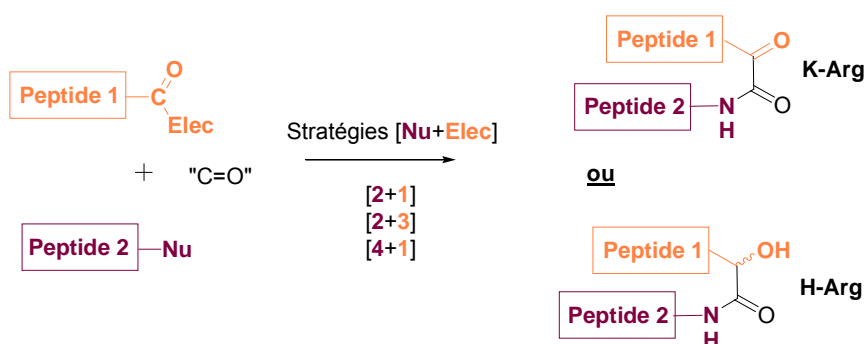


Figure 16. Elaboration des peptides linéaires comportant un motif K-Arg ou H-Arg

La première approche envisagée s'inspire du travail publié par Semple⁵³, sur la synthèse d'un fragment térapeptidique des CtA et CtB *via* la réaction de Passerini⁵⁴⁻⁵⁷, suivie d'un réarrangement par *O,N*-trans-acylation (voir section I.5.7). En effet, la réaction de

Passerini, une Réaction Multi-Composants (RMC) à trois réactifs, pourrait être réalisée entre : un nucléophile de type isonitrile **153**, un électrophile aldéhydique **152** et un acide carboxylique **151** pour former un depsipeptide linéaire (RMC [2+1+2]) (**Figure 17**). Ce depsipeptide subirait ensuite une déprotection du côté *N*-terminal, puis un réarrangement par une *O*, *N*-trans-acylation, qui permettrait la synthèse d'un pentapeptide linéaire contenant le motif H-Arg en seulement trois étapes. Cet enchaînement *via* la réaction de Passerini et la *O*, *N*-trans-acylation sera appelé « PAM » pour « Passerini-Acyl-Migration ».

Le pentapeptide linéaire obtenu par la stratégie « PAM » pourrait ensuite être déprotégé et macrocyclisé entre les résidus Dpr et V-Tyr. Le macrocycle contenant le motif H-Arg devrait ensuite être oxydé pour faire apparaître le résidu K-Arg et finalement déprotégé pour obtenir le CtC (**Figure 17**).

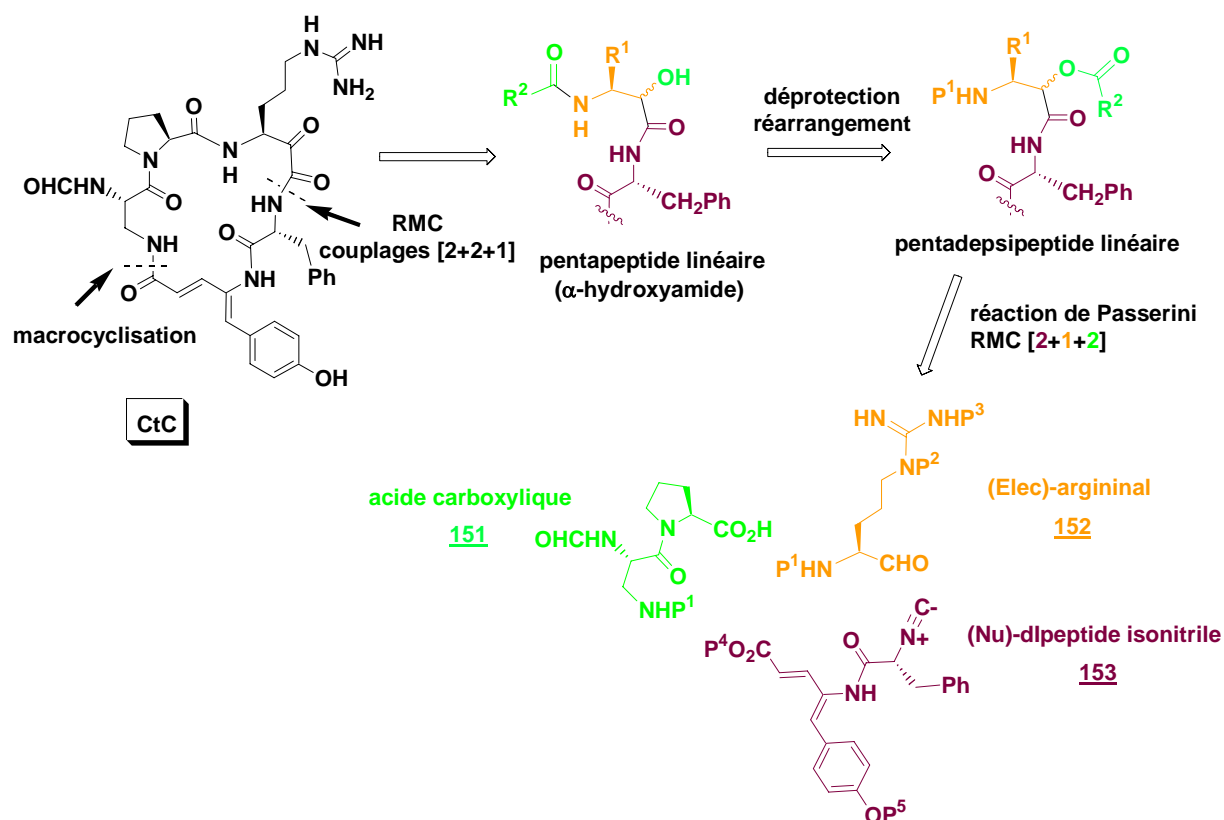


Figure 17. Rétrosynthèse du CtC *via* la stratégie « PAM »

La deuxième approche fait intervenir une réaction (one-pot) que l'on appellera « MAC » récemment développée par Nemoto et coll.⁶⁰. Cette réaction décrite initialement en

⁶⁰ H. Nemoto, Y. Kubota, Y. Yamamoto *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 4515-4516.

1990 et développée plus récemment⁶¹, met en jeu trois réactifs : une amine, un aldéhyde et un réactif umpolung, le « Masked Acyl Cyanide » ou MAC **154** qui permet d'élaborer en une seule étape des motifs α -silyloxyamides (**Figure 18**). Nemoto et coll. ont synthétisé par une stratégie [1+1] des dipeptides⁶¹, ce qui nous a donné l'idée de développer et repousser les limites de cette stratégie pour des couplages de type [2+1], [2+3] et [4+1] qui conduiraient aux tripeptides et pentapeptides linéaires qui conviendraient pour la synthèse du CtC (**Figure 18**).

La stratégie « MAC » semble intéressante pour créer en une seule étape le motif H-(O-TBS)-Arg. En effet, les voies [2+3] et [4+1] utiliseraient respectivement les nucléophiles dipeptide **155** et tétrapeptide **156** pour des couplages avec les électrophiles tripeptide **157** et aminoacide **152** pour conduire à deux pentapeptides différents contenant le motif H-(O-TBS)-Arg. Deux possibilités de macrocyclisation Dpr-V- Δ Tyr et H-Arg-Pro pourront alors être examinées (**Figure 18**). La troisième approche [2+1] par couplage entre le nucléophile **155** et l'électrophile **152** conduirait à un tripeptide linéaire contenant aussi le motif H-(O-TBS)-Arg et qui pourrait permettre par élongation des extrémités C et N-terminales d'obtenir les deux pentapeptides précédemment mentionnés.

⁶¹ H. Nemoto, R. Ma, I. Suzuki, M. Shibuya, *Org. Lett.* **2000**, 2, 4245-4247.

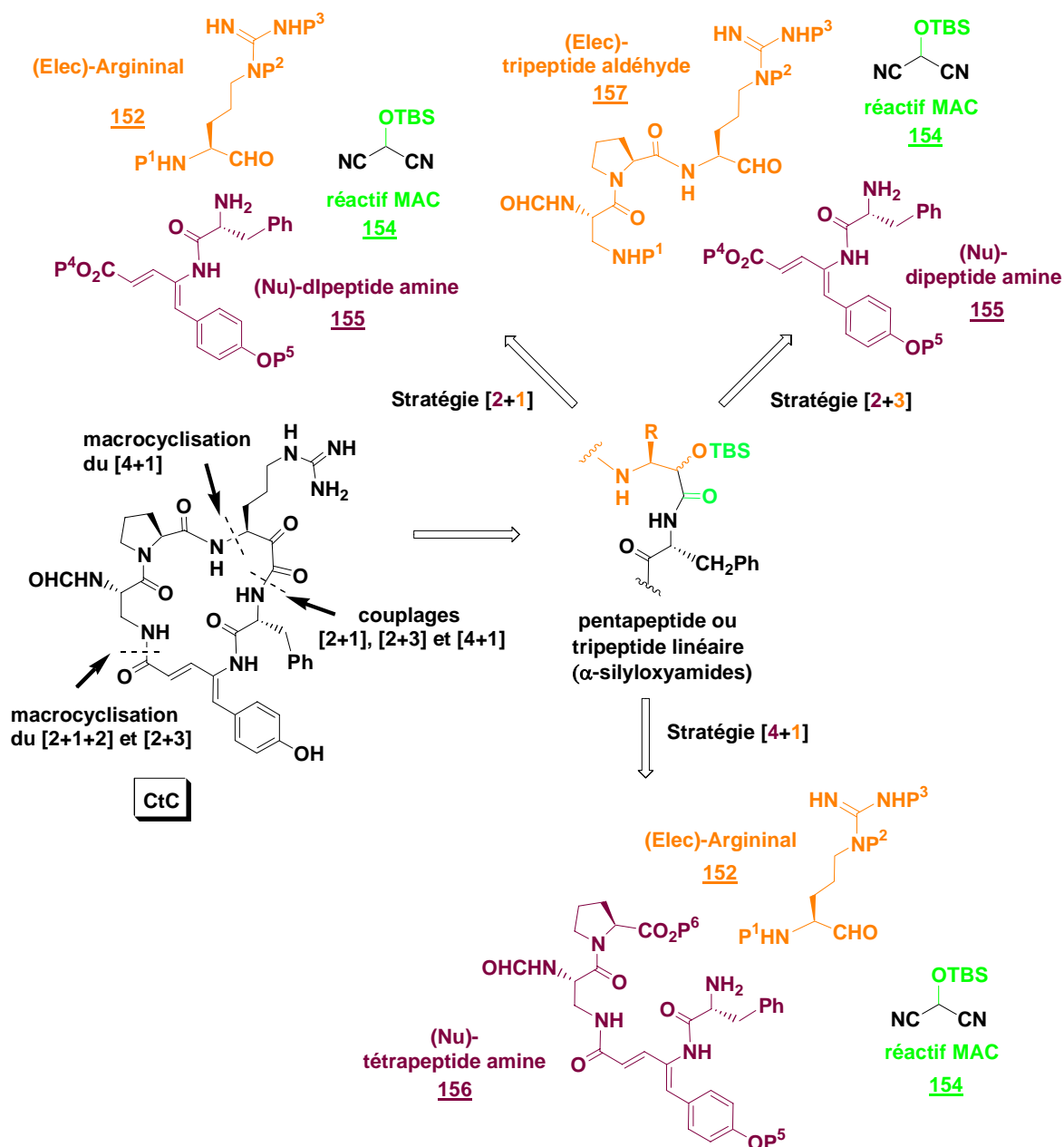


Figure 18. Rétrosynthèse du CtC via la stratégie « MAC »

Les deux premières approches sont axées sur la synthèse du motif H-Arg, qu'il faudrait par la suite oxyder en K-Arg. Wasserman a été le seul à décrire la synthèse directe de la fonction α -cétoamide du motif K-Arg pour les CtE₂ et CtE₃ sans passer par l' α -hydroxyamide intermédiaire.

En effet l'équipe de Wasserman a étudié l'obtention des fonctions α -dicarbonylée⁶² et même α -tricarbonylée⁶³ dans les peptides. Leur méthodologie est basée sur une ozonolyse

⁶² H. H. Wasserman, W-B. Ho, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 4364-4366.

d'un α -cétocyanophosphorane générant *in situ* un α -cétacyl cyanure électrophile (non isolable), qui réagit aussitôt avec des nucléophiles de type alcool ou amine (présent dans le milieu ou ajouté après ozonolyse) pour fournir respectivement un α -cétoester ou un α -cétoamide. Nous appellerons cette stratégie « α -Keto-Acyl-Cyanide » ou « KAC », car les α -cétacyl cyanures générés *in situ* représentent les réelles espèces électrophiles.

Cette stratégie a atteint son niveau de complexité le plus important pour Wasserman, lors de la synthèse des CtE₂ et CtE₃ (voir section I.5.6), par une ozonolyse du tripeptide α -cétocyanophosphorane (électrophile) **129** suivie d'un couplage de type [2+3] utilisant le partenaire dipeptidique amine **125** (nucléophile)^{51a,b}.

Au vu des résultats publiés par Wasserman lorsque nos travaux ont débutés et de notre propre analyse comparative des différentes synthèses des Cts (voir section I.5.9), il nous a semblé opportun d'étudier la stratégie « KAC » pour créer le motif K-Arg du CtC (**Figure 19**). Dans cette optique nous avons souhaité réaliser une étude comparative des différentes voies d'accès possibles aux tripeptides et pentapeptides comportant la fonction K-Arg. Pour cela, il nous faudrait donc étudier la réaction d'ozonolyse pour des stratégies « KAC » de type [2+1], [2+3] et [4+1] mettant en jeu les électrophiles α -cétocyanophosphoranes **126** (utilisé par Wasserman, section I.5.6.) et **159**, suivie par des couplages avec les nucléophiles amines **155** et **156** pour accéder à différents tripeptides et pentapeptides linéaires (**Figure 19**). Les tripeptides pourraient ensuite être développés en pentapeptides sans modification du résidu K-Arg et pourraient ainsi permettre de comparer deux différentes possibilités de macrocyclisation Dpr-V- Δ Tyr et K-Arg-Pro pour conduire au CtC.

⁶³ a) H. H. Wasserman, D. S. Ennis, C. A. Blum, V. M. Rotello, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6003-6006; b) H. H. Wasserman, D. S. Ennis, P. L. Power, M. J. Ross, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 4785-4787; c) H. H. Wasserman, K. Lee, M. Xia, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 2511-2514.

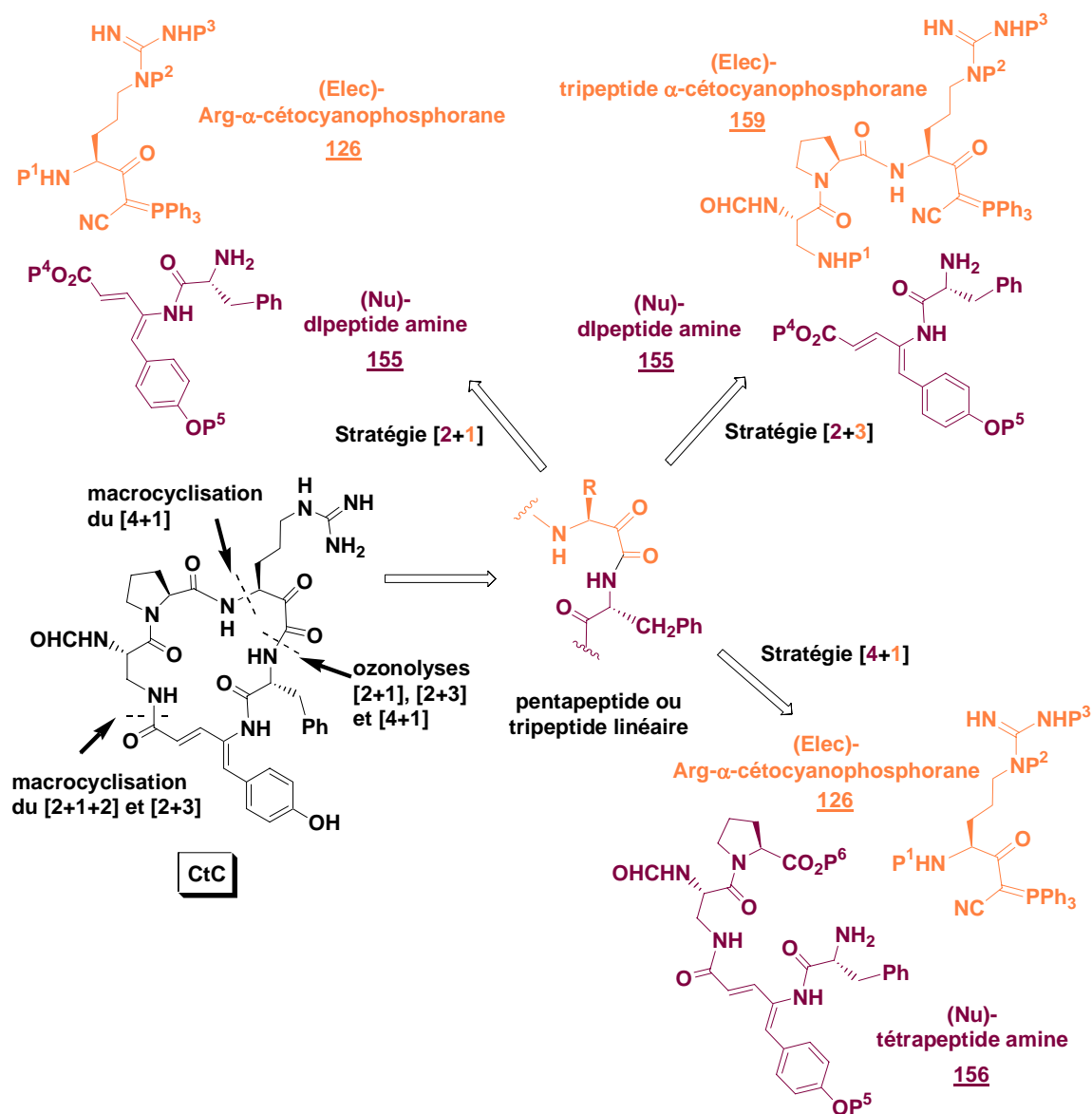


Figure 19. Rétrosynthèse du CtC via la stratégie « KAC »

II.2. Choix des fragments Nucléophiles et Electrophiles

Les trois différentes stratégies envisagées pour la première synthèse du CtC, que nous venons d'exposer, font intervenir des intermédiaires proches et même dans certains cas identiques. Les stratégies « PAM » et « MAC » font appel aux électrophiles α -aminoaldéhydes **152** et **157** ; par ailleurs les approches « MAC » et « KAC » font intervenir des nucléophiles de type amine libre **155** et **156** (Figures 17, 18 et 19).

Avant de débuter la synthèse de ces différents intermédiaires, il nous a fallu sélectionner minutieusement les groupements protecteurs des amines et acides destinés à être

engagés dans des couplages peptidiques et également ceux des chaînes latérales des aminoacides Arg, Tyr et Dpr. Grâce à l'analyse des différentes synthèses de Cts réalisée dans le chapitre I, nous avons retenu les protections qui semblaient les plus judicieuses pour notre synthèse (**Figure 20**).

Nous proposons la protection de la fonction guanidine du résidu Arg par deux groupements Cbz ($P^2=P^3=\text{Cbz}$, pour **Figures 17, 18, 19**) parce que cette protection a montré son efficacité lors de la synthèse des CtE₂ et CtE₃ par Wasserman et coll. (sections I.5.6 et I.5.9). En plus de sa facilité d'obtention, la guanidine doublement protégée par des benzylcarbamates s'est avérée assez résistante en milieux basiques ou acides. La déprotection classique d'un benzyl carbamate par hydrogénation catalytique est proscrite, à cause des insaturations présentes dans le motif V-ΔTyr. Cependant la libération de la fonction guanidine en fin de synthèse est envisageable par action de HF.

La protection du phénol du résidu V-ΔTyr par un éther silylé triisopropylsilyle ($P^5=\text{TIPS}$) semble appropriée. En effet, ce groupement silylé a été utilisé sans problème dans les synthèses de Wipf et Wasserman. De plus, sa compatibilité avec les groupements Cbz sur l'arginine devrait permettre la déprotection finale du CtC en une seule étape.

Sur l'amine-α du Dpr, nous avons choisi d'introduire le groupement formyle présent dans la structure de CtC le plus tôt possible dans la synthèse, comme l'avait fait Wipf pour la première synthèse du CtA.

Enfin, les amines *N*-terminales et les acides *C*-terminaux devront être protégés de manière orthogonale et aisément libérables. Pour cela, nous avons choisi le groupement *tert*-butylcarbamate pour les amines ($P^1=\text{Boc}$) qui peut être coupé en présence de TFA ou HCl. Pour les acides nous privilégierons des groupements pouvant être éliminés dans des conditions basiques ou par action de métaux. Ainsi l'acide carboxylique de Pro sera protégé orthogonalement en ester allylique ($P^6=\text{allyl}$). Les autres acides seront protégés sous forme d'esters méthyliques ($P^4=\text{Me}$).

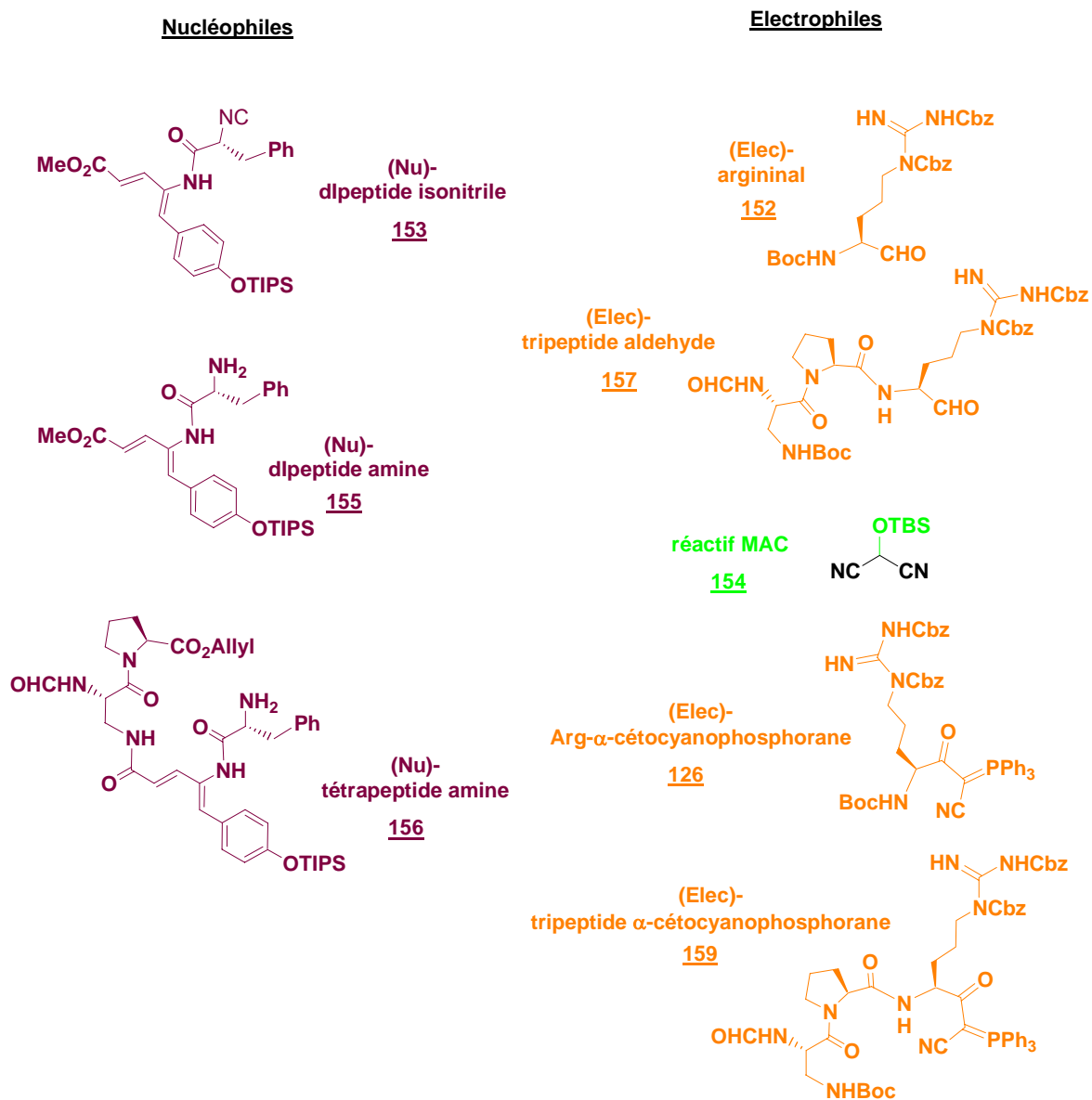


Figure 20. Les fragments Nucléophiles et Electrophiles impliqués dans les différentes stratégies

II.3. Plan de l'exposé

Nous avons choisi de présenter successivement, dans les chapitres III et IV de ce mémoire, la synthèse des molécules cibles électrophiles et nucléophiles.

Le chapitre III sera constitué de trois sous parties correspondant aux différentes classes d'électrophiles : les α -aminoaldéhydes [152](#) et [157](#), les α -cétoacyanophosphoranes [126](#) et [159](#), ainsi que le réactif umpolung MAC [154](#) (**Figure 20**). Nous exposerons également dans ce chapitre la préparation de l'acide aminé non protéinogénique Dpr, qui est un résidu important pour la synthèse des tripeptides électrophiles [157](#) et [159](#).

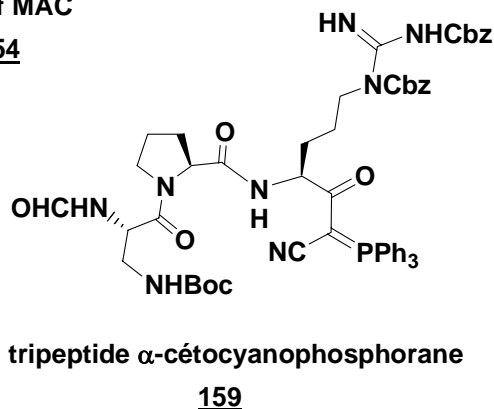
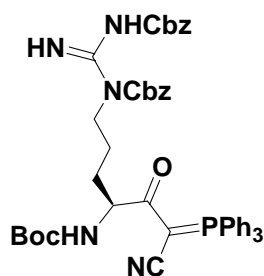
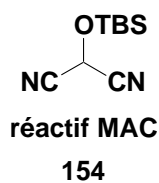
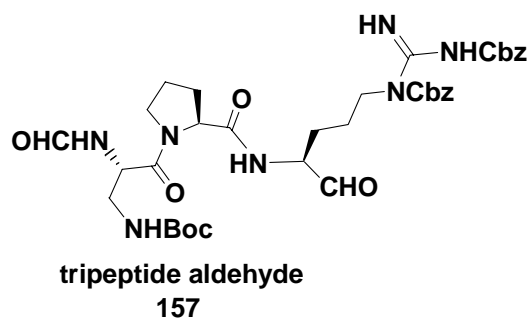
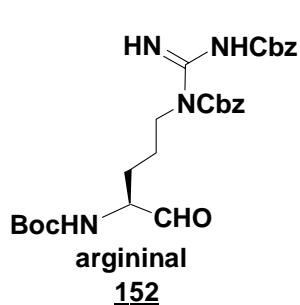
Le chapitre IV sera consacré à l'obtention des fragments peptidiques nucléophiles : les amines [155](#) et [156](#) et l'isonitrile [153](#) (**Figure 20**). La première sous partie de ce chapitre sera une étude approfondie de la synthèse d'un dipeptide contenant le motif V- Δ Tyr, intermédiaire clé pour l'obtention des différents nucléophiles.

Dans le chapitre V, nous exposerons les trois stratégies « PAM », « MAC » et « KAC » pour l'élaboration du squelette pentapeptidique du CtC. Nous verrons ainsi avec quelle efficacité ces trois stratégies permettent de créer les motifs H-Arg, H-(*O*-TBS)-Arg et K-Arg, qui représentent le défi majeur de la synthèse de CtC. Nous examinerons également dans ce chapitre, l'étape de macrocyclisation qui selon les différentes stratégies prend place entre les résidus : Dpr-V- Δ Tyr, H-Arg-Pro ou K-Arg-Pro pour accéder aux cyclopentapeptides correspondants.

Enfin dans le chapitre VI, nous conclurons par une comparaison des différentes stratégies « PAM », « MAC » et « KAC », leur avancement respectif et les perspectives pour la synthèse totale du CtC.

Chapitre III.

Synthèse des fragments électrophiles peptidiques



Dans ce chapitre, nous allons présenter la synthèse des différents aminoacides et peptides électrophiles précédemment définis dans le Chapitre II (**Figure 21**) :

- les aldéhydes : l' α -aminoaldéhyde **152** et le tripeptide aldéhyde **157**
- les α -cétocyanophosphoranes : le dérivé d'arginine **126** puis le tripeptide **159** qui sont les précurseurs des α -cétoacylcyanures ; électrophiles non isolables
- le réactif umpolung MAC **154**.

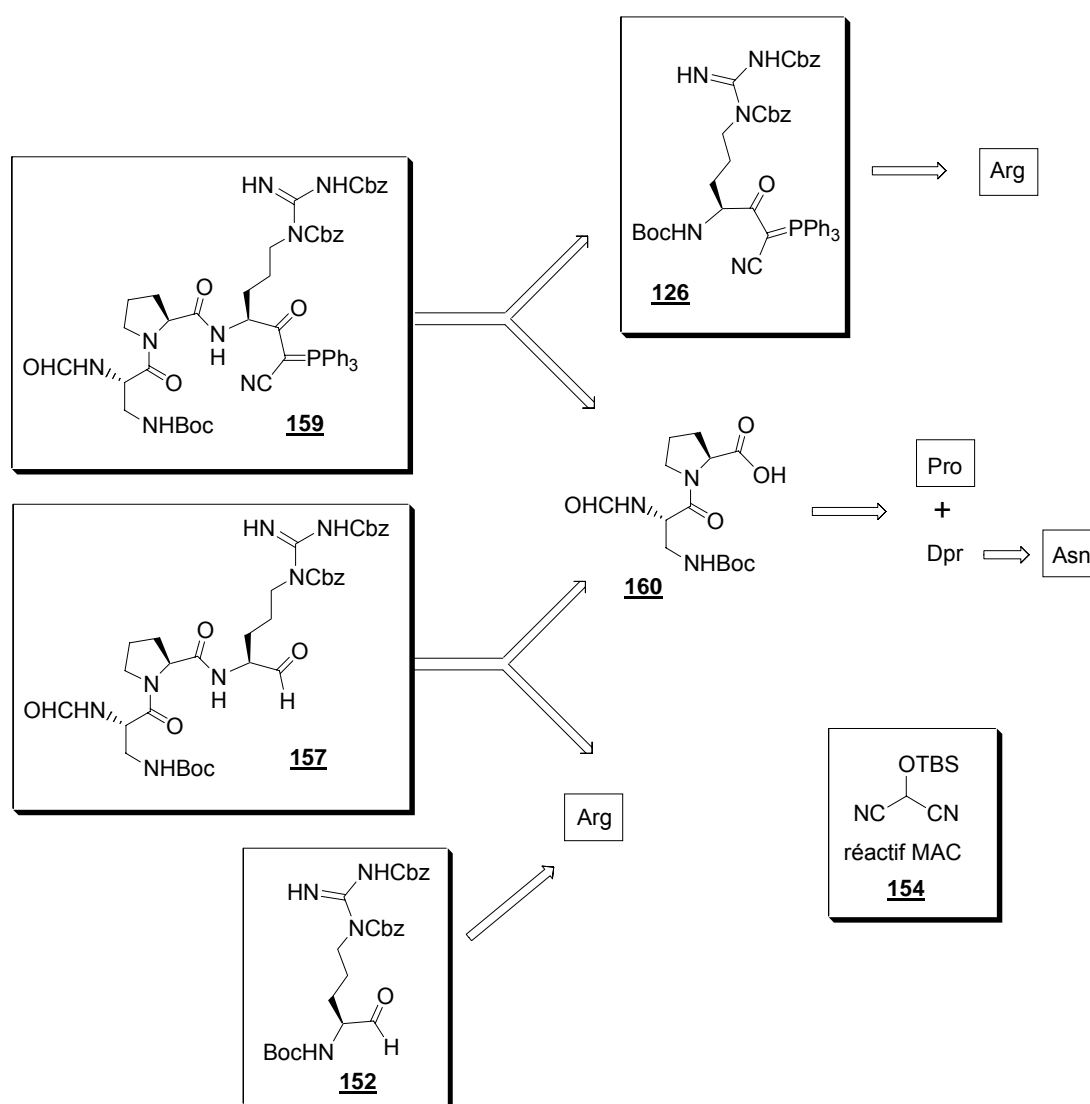


Figure 21. Rétrosynthèse des électrophiles 152, 157 et 126, 159 et du dipeptide 160

Dans le schéma rétrosynthétique que nous proposons (**Figure 21**), l' α -aminoaldéhyde **152** pourrait être obtenu à partir de l'arginine alors que le tripeptide aldéhyde **157** serait issu du couplage entre un dérivé de l'arginine et le dipeptide de type Dpr-Pro **160**. Ce dipeptide **160** pourrait être obtenu à partir de Pro et de Dpr, ce dernier pouvant provenir de l'asparagine

(Asn). Enfin le tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** serait synthétisé à partir du dipeptide **160** par couplage avec l' α -cétocyanophosphorane **126**, obtenu à partir de Arg .

Ce chapitre est constitué de trois parties distinctes.

Dans une première partie, nous allons examiner la synthèse des électrophiles aldéhydiques. Nous étudierons en détail l'obtention de l' α -aminoaldéhyde **152** et du tripeptide aldéhyde **157**, qui nécessitera l'utilisation du dipeptide **160**. Pour accéder à ce dipeptide, nous examinerons la synthèse du résidu Dpr, un acide aminé non protéinogénique assez singulier.

Dans une seconde partie, nous discuterons de l'obtention des électrophiles α -cétocyanophosphoranes : le dérivé d'arginine **126** et le tripeptide **159**.

Enfin une dernière partie sera consacrée à la synthèse du réactif umpolung MAC **154**.

III.1. Synthèse des électrophiles aldéhydiques

Dans cette section nous allons décrire la préparation des différents électrophiles aldéhydiques **152** et **157** et du dipeptide Dpr-Pro **160**.

III.1.1. Synthèse des argininals

Avant d'aborder l'obtention des dérivés aldéhydiques de l'arginine, il a fallu dans un premier temps protéger de façon adéquate le guanidinium. La N^{α} -Boc-Arg.HCl **161** commerciale a été doublement protégée sur les azotes δ et ϵ de la fonction guanidine, comme l'a décrit Wasserman pour la synthèse des CtE_2 et CtE_3 ⁶⁴. La guanidine a été protégée par deux benzylcarbamates (Cbz) après activation par le chlorure de triméthylsilyle (TMSCl) comme l'a décrit Ottenheim⁶⁴. Voyant que le mode opératoire de la littérature ne donnait pas de résultats très satisfaisants (50% de rendement pour deux étapes), nous avons refait cette réaction en utilisant un large excès de chloroformate de benzyle (CbzCl; 10 éq), ce qui nous a permis l'obtention du composé **162** avec une sensible amélioration du rendement 68% (**Schéma 20**).

⁶⁴ M. Jetten, C. A. M Peters, J. W. F. M. van Nipsen, H. C. J. Ottenheim, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 6025-6028.

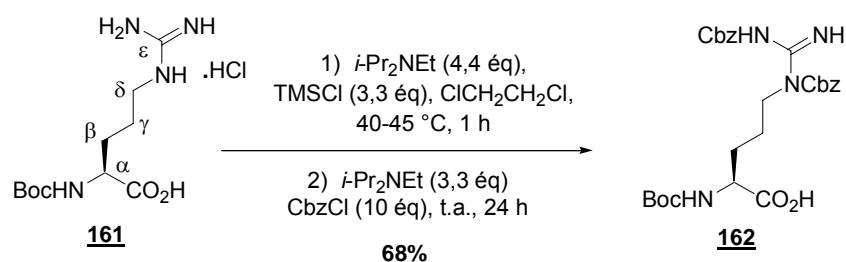


Schéma 20

Les différentes méthodes de synthèse d' α -aminoaldéhydes ont été reportées dans deux revues écrites par Jurczak et coll.^{65,66}. Afin d'accéder à un α -aminoaldéhyde à partir d'un α -aminoacide, deux méthodes générales distinctes sont envisageables : soit par réduction de l' α -aminoacide en β -aminoalcool suivi d'une réoxydation en α -aminoaldéhyde, soit par réduction contrôlée d'un dérivé choisi de l' α -aminoacide (ester, amide de Weinreb...) par un hydrure (**Schéma 21**). Ces deux méthodes semblent être d'une efficacité comparable au niveau des rendements et de la pureté optique (ee) des α -aminoaldéhydes obtenus. Dans les deux revues les auteurs soulignent tout de même deux problèmes particuliers lorsque la stratégie consiste à réduire un dérivé d' α -aminoacide : la racémisation du C- α des aminoaldéhydes et la sur-réduction en alcools primaires. Pourtant Jurczak⁶⁵ note que la méthode la plus répandue est la réduction d'un α -aminoester par l'hydrure de diisobutylaluminium (DIBAL-H)⁶⁷, mais elle engendre parfois des sur-réductions en β -aminoalcool et un certain degré de racémisation de l' α -aminoaldéhyde cible **166** (selon R¹ et P¹, excès énantiomérique (ee) 70-98%).

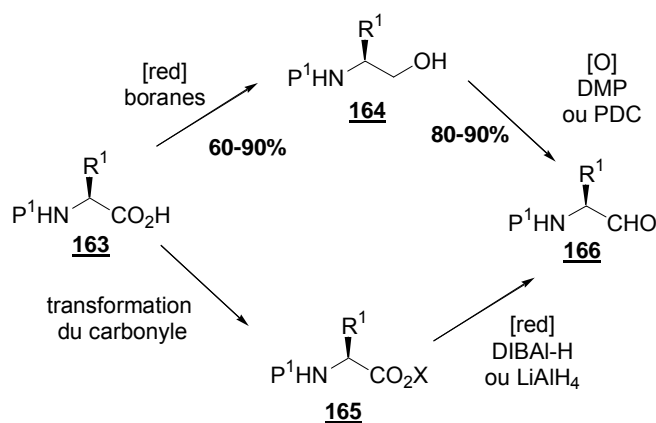


Schéma 21

⁶⁵ Revue : J. Jurczak, A. Golebiowski, *Chem. Rev.* **1989**, 89, 149-164.

⁶⁶ Revue : D. Gryko, J. Chalko, J. Jurczak, *Chirality* **2003**, 15, 514-541.

⁶⁷ Y.-K. Shue, G. M. Carrera, M. D. Tufano, A. M. Nadzan, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2107-2111.

Parmi les différentes méthodes décrites, nous avons choisi d'étudier la réduction contrôlée de deux dérivés : la plus commune étant la réduction d'un amide de Weinreb^{68,69,70,71,72,73} et la seconde étant une réduction d'un thioester, qui selon la littérature donne de très bon ee pour les α -aminoaldéhydes **166** obtenus (ee>99%)^{74,75}.

L'amide de Weinreb désiré **167** a été obtenu par couplage de l'arginine protégée **162** avec la *N,O*-diméthylhydroxyamine en présence de EDCi **11**, avec un rendement satisfaisant de 93%. Un second amide de Weinreb **168** a été préparé à partir de **167**, par une séquence déprotection-reprotection⁷⁶ pour introduire le groupement protecteur Fmoc à la place du groupement Boc avec un rendement de 91% (**Schéma 22**).

Pour la première voie de réduction, une étude de Martinez et coll. sur la réduction des amides de Weinreb a mis en avant l'efficacité (en terme de Rdt et ee) de l'aluminohydru de lithium, ainsi que des hydrures plus doux tels le LiAl(*O**t*-Bu)₃H et l'hydru de tris[(3-ethyl-3-pentyl)oxy]lithium aluminium⁷⁰. Les amides de Weinreb **167** et **168** ont donc été réduits avec du LiAlH₄ (2,5 éq) avec des temps de réaction différents selon les substrats, pour conduire aux α -aminoaldéhydes souhaités **152a** et **152b** avec des rendements respectifs de 75% et 57% (**Schéma 22**). Ces deux α -aminoaldéhydes **152a** et **152b** ont été obtenus en deux et trois étapes respectivement, avec des rendements globaux satisfaisants de 70 et 50% à partir de **162** (**Schéma 22**). Nous avons présenté ici la synthèse de l'électrophile **152b** que nous ne pensions pas préparer au début de ce travail, mais dont nous verrons l'utilité lors des assemblages de peptides dans le chapitre V, du fait de la protection orthogonale de l'amine- α par un Fmoc.

⁶⁸ *Revue*: J. Singh, N. Satyamurthi, I. Singh Aidhen, *J. Prakt. Chem.* **2000**, 342, 340-347.

⁶⁹ *Revue*: M. P. Sibi, *Org. Prep. Proc. Int.* **1993**, 25, 15-40.

⁷⁰ M. Paris, C. Pothion, A. Heitz, J. Martinez, J.-A. Fehrentz, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 1341-1344.

⁷¹ J.-A. Fehrentz, B. Castro, *Synthesis* **1983**, 676-678.

⁷² J. J. Wen, C. M. Crews, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, 9, 1855-1858.

⁷³ S. Benetti, C. De Risi, P. Marchetti, G. P. Pollini, V. Zanirato, *Synthesis* **2002**, 331-338.

⁷⁴ a) T. Fukuyama, S.-C. Lin, L. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7050-7051; b) H. Tokuyama, S. Yokoshima, S.-C. Lin, L. Li, T. Fukuyama, *Synthesis* **2002**, 1121-1123.

⁷⁵ P. T. Ho, K.-Y. Ngu, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 2313-2316.

⁷⁶ L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Org. Chem.* **1972**, 37, 3404-3409.

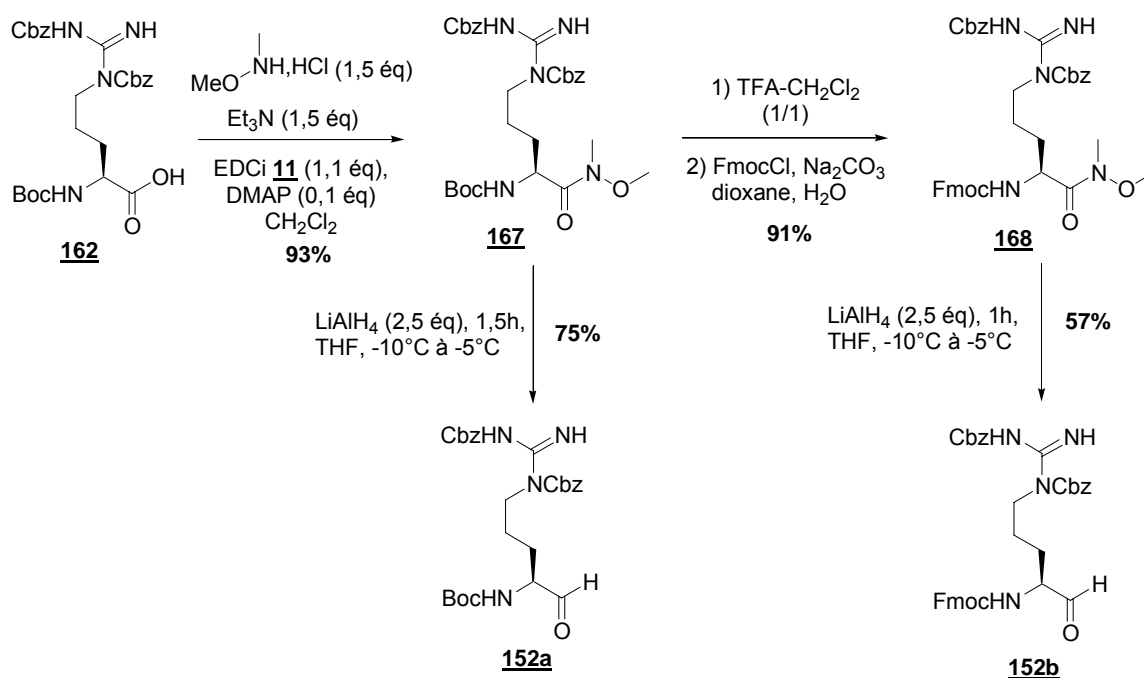


Schéma 22

Parallèlement, nous avons synthétisé l'argininal **152a** par réduction du thioéthylester **169** par action d'un hydrure de silane (**Schéma 23**). Le thioester d'éthyle **169** a été obtenu par un couplage entre l'arginine protégée **162** et le thioéthanol en présence d'IBCF **29** avec un très bon rendement de 96%. La réduction utilisant le triéthylsilane a été relativement décevante, puisque nous avons obtenu l'α-aminoaldéhyde **152a** avec des taux de conversions proche de 60% et un rendement de 22% (**Schéma 23**). Par contre cela nous a permis la comparaison du pouvoir rotatoire des deux échantillons de **152a**, qui par la deuxième méthode avait une valeur de $+9,2$ ($c = 1,00$; CHCl_3), alors que l'échantillon obtenu par réduction de l'amide de Weinreb avait une valeur tout à fait comparable de $+9,8$ ($c = 1,00$; CHCl_3).

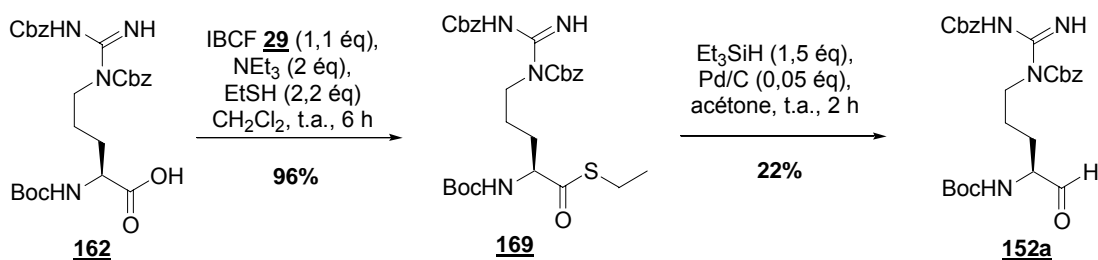


Schéma 23

Nous pouvons conclure de la comparaison de ces deux voies d'accès aux α-aminoaldéhydes, que la réduction des amides de Weinreb **167** et **168** par le LiAlH_4 est la méthode de choix pour l'obtention des α-aminoaldéhydes souhaités **152a** et **152b** (**Schéma 22**).

III.1.2. Synthèse du dipeptide N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr-Pro via le Dpr

Dans le premier chapitre, nous n'avons pas évoqué l'obtention du motif Dpr par les différents auteurs ayant effectué une synthèse totale d'un Ct. Or ce résidu Dpr est un aminoacide non protéinogénique qui nécessite un soin particulier lors de sa conception, puisqu'il possède deux amines α et β , devant être différenciées. Nous allons présenter dans un premier temps les principales méthodes d'accès au Dpr décrites dans la littérature. Dans un deuxième temps, nous répertorierons les différents résidus Dpr orthogonalement protégés utilisés lors des synthèses des Cts. Enfin nous décrirons les approches que nous avons développées dans notre synthèse du CtC.

III.1.2.a. Le Dpr dans la littérature

La littérature fait état de cinq principales méthodes pour l'obtention du résidu Dpr. Les deux premières méthodes sont basées sur la substitution de la fonction hydroxy de la sérine (Ser) par une amine (**Schémas 24 et 25**). Le résidu Ser protégé au niveau de l'amine par un Cbz ou un Boc peut subir une réaction de type Mitsunobu intramoléculaire pour conduire aux β -lactones **170a** et **170b** avec des rendements de 60% et 72% (**Schéma 24**)⁷⁷. Les β -lactones peuvent ensuite être ouvertes par une attaque nucléophile de l'ammoniaque gazeux pour obtenir les deux dérivés de Dpr correspondant **171a** et **171b** avec de bons rendements de 75% et 79%.

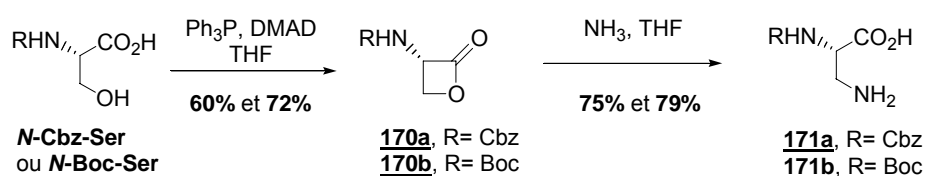


Schéma 24

La seconde méthode impliquant un résidu Ser comme précurseur est réalisée en trois étapes (**Schéma 25**)⁷⁸. L' α -aminoacide protégé N -Boc-Ser- O - t -Bu est d'abord activée à l'aide de chlorure de phénylémthanesulfonyle en présence de pyridine pour obtenir avec un rendement de 95% le composé **172**, qui subit ensuite une substitution nucléophile à l'aide d'azoture de sodium pour donner le dérivé azoture **173** avec un rendement de 70%. Enfin l'azoture **173** est hydrogéné en présence de palladium sur charbon pour obtenir le Dpr **174** avec un rendement global de 63%.

⁷⁷ L. D. Arnold, T. H. Kalantar, J. C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 7105-7109.

⁷⁸ Y. Zou, N. E. Fahmi, C. Vialas, G. M. Miller, S. M. Hecht, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 9476-9488.

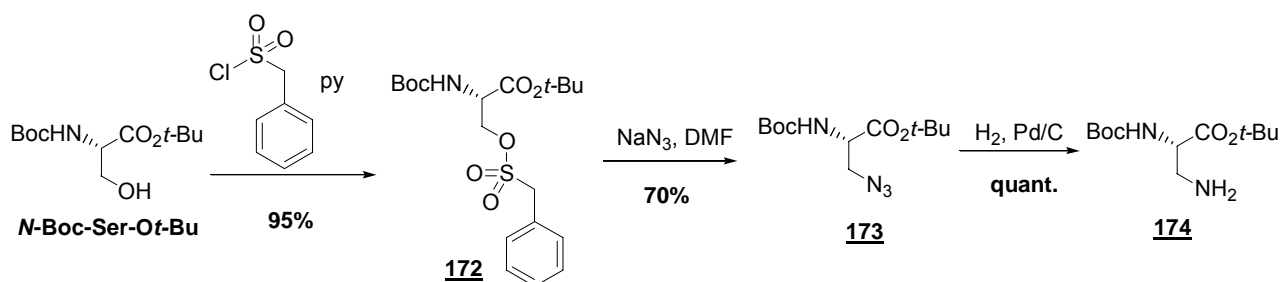


Schéma 25

La troisième méthode consiste en l'ouverture d'une aziridine-2-carboxylate par un nucléophile aminé (**Schéma 26**)⁷⁹. En effet les aziridine-2-carboxylates qui possèdent un groupement électroattracteur sur l'azote (dans cet exemple un tosyle, Ts) peuvent subir des attaques nucléophiles contrôlées d'ouverture de cycle en α ou β . Pour synthétiser des dérivés de Dpr, les auteurs ont optimisé les conditions réactionnelles pour obtenir l'ouverture en β de l'aziridine **175** à l'aide d'ammoniac, obtenant ainsi le résidu Dpr **176** avec un rendement de 88%. Cette approche semble assez efficace, tout en sachant qu'il faut préalablement synthétiser l'aziridine-2-carboxylate souhaitée.

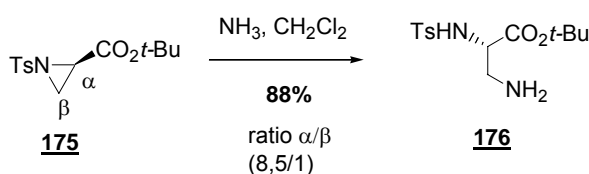


Schéma 26

Enfin, les deux dernières méthodes de synthèse du résidu Dpr assez similaires font intervenir des réarrangements de type Curtius sur l'acide aspartique (Asp)^{80,81} et de type Hofmann sur l'asparagine (Asn)^{82,83}. Ces deux méthodes sont les plus utilisées de la littérature, et plus particulièrement la seconde qui permet d'isoler les résidus Dpr souhaités en une seule étape, avec souvent de très bons rendements.

La première méthode utilise comme précurseur l'acide aspartique protégé **177** (**Schéma 27**). Le composé **177** subit un réarrangement à l'aide de DPPA **27** et de triéthylamine pour former l'urée cyclique **178** avec 65% de rendement. Cette urée est ensuite ouverte par hydrolyse avec une solution d'acide chlorhydrique pour obtenir le Dpr **179** sous forme de sel.

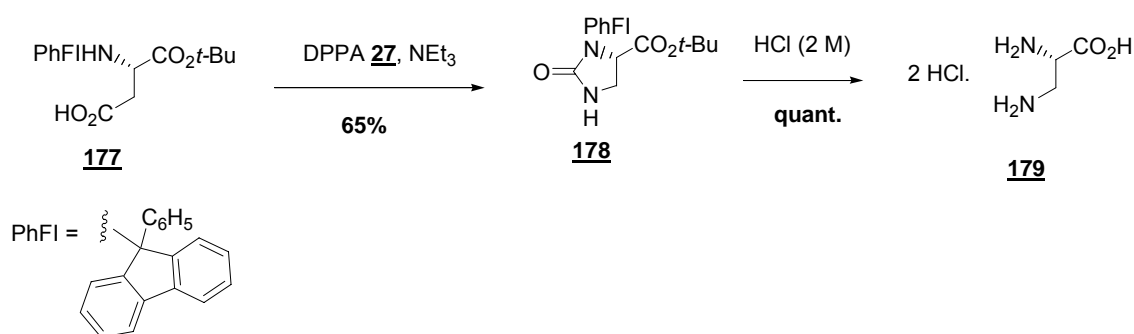
⁷⁹ M. E. Solomon, C. L. Lynch, D. H. Rich, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 4955-4958.

⁸⁰ P. J. Dunn, R. Häner, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 5017-5025.

⁸¹ E. A. Englund, H. N. Gopi, D. H. Appella, *Org. Lett.* **2004**, 6, 213-215.

⁸² M. Waki, Y. Kitajima, N. Izumiya, *Synthesis* **1981**, 266-268.

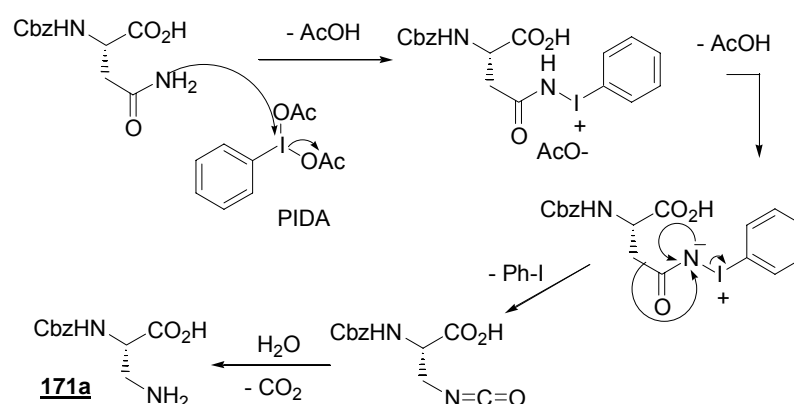
⁸³ a) G. M. Loudon, A. S. Radhakrishna, M. R. Almond, J. K. Blodgett, R. H. Boutin, *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 4272-4276; b) G. M. Loudon, A. S. Radhakrishna, M. R. Almond, J. K. Blodgett, R. H. Boutin, *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 4277-4284.



La seconde méthode permet de synthétiser des dérivés de Dpr à partir de Asn et d'iode hypervalent par un réarrangement d'Hofmann (**Schéma 28**). La procédure décrite en 1981 par Izumiya⁸² pour le réarrangement d'une asparagine protégée, utilise les réactifs iodosobenzèneditrifluoroacétate (PIFA)⁸³ ou iodosobenzènediacétate (PIDA)⁸⁴ comme source d'iode hypervalent. L'auteur a ainsi synthétisé les deux résidus Dpr **171a** et **171b** en une seule étape à partir de *N*-Cbz-Asn et de *N*-Boc-Asn avec de bons rendements respectifs de 84% et 60% (**Schéma 28**).



En effet ce réarrangement permet en une seule étape, la transformation d'un amide primaire en amine correspondante à l'aide de l'iode hypervalent, avec passage par un isocyanate qui subit une hydratation puis décarbonylation (**Schémas 28 et 29**).



⁸⁴ L.-H. Zhang, G. S. Kauffman, J. A. Pesti, J. Yin, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 6918-6920.

III.1.2.b. Création du résidu Dpr dans les synthèses de Cts

Nous allons dans cette partie examiner l'obtention des résidus Dpr impliqués dans les synthèses des Cts (Section I.5). Cinq équivalents protégés de Dpr ont été utilisés au cours des sept synthèses des CtA, CtB, CtE₂ et CtE₃ décrites dans la littérature (**Figure 22**)⁴⁶⁻⁵¹.

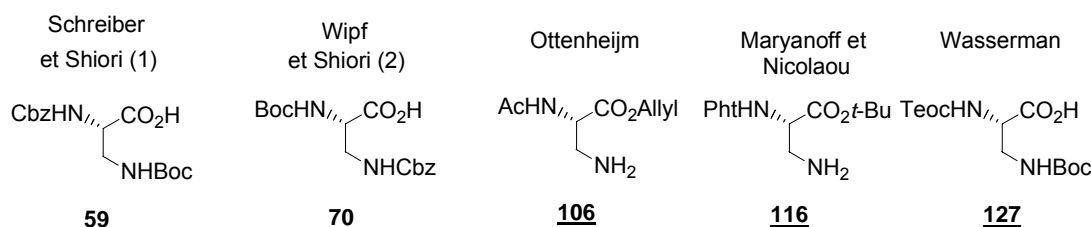


Figure 22. Les différents résidus Dpr utilisés lors des synthèses de Cts

Lors des premières synthèses des CtA et CtB réalisées successivement par Schreiber, Wipf et Shiori, les auteurs ont utilisé les mêmes groupements protecteurs Cbz et Boc avec une simple inversion entre les amines α et β (**Figure 22**)⁴⁶⁻⁴⁸. Les rendements pour l'obtention des résidus Dpr **59** et **70** n'ont pas toujours été donnés, mais les auteurs ont tous utilisé la procédure de Izumiya⁸² (Section III.1.2.a). Wasserman a lui aussi utilisé cette méthode pour la préparation de son dérivé **127** par un réarrangement de N^α -Teoc-Asn en N^α -Teoc-Dpr, suivi d'une protection de l'amine- β par un Boc avec un rendement de 77%⁵¹.

Par contre Ottenheijm⁴⁹ a développé son résidu Dpr **106** par réarrangement de Curtius à partir de l'acide aspartique (Asp) et d'azoture de sodium (**Schéma 30**)⁸⁰. Cette méthode nécessite après l'étape de réarrangement, une seconde étape de protection sélective de l'amine- β . En effet, l'amine- β est une amine primaire qui peut être protégée assez sélectivement (8/1) par un groupement Boc dans des conditions diluées⁸⁵. Ottenheijm a fait état de difficulté d'isolement du dérivé Dpr **181** lors de cette protection sélective. Il y a remédié par un enchaînement successif des deux étapes de protections conduisant au Dpr **182** avec 64% de rendement. Ottenheijm a ainsi pu obtenir le résidu Dpr **106** en 5 étapes avec un rendement global de 25%.

⁸⁵ M. S. Egbertson, C. F. Homnick, G. D. Hartman, *Synth. Commun.* **1993** 23, 703-709.

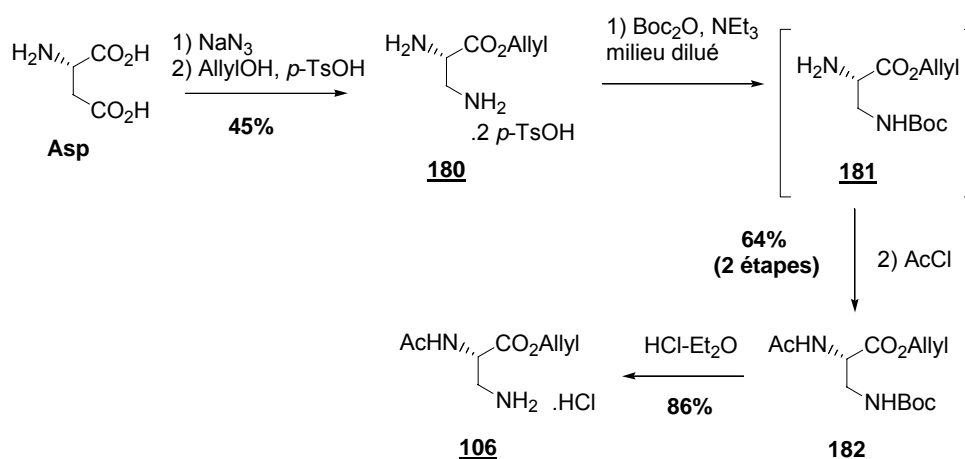


Schéma 30

Maryanoff et Nicolaou n'ont pas explicité l'obtention du Dpr **116**. Cependant, notons que la protection orthogonale par un phthalimide de l'amine- α de Dpr **116** permet l'introduction de différentes chaînes latérales en fin de synthèse.

Dans la majorité des synthèses, le résidu Dpr a été obtenu par un réarrangement d'Hofmann d'une Asn. Notons que les produits naturels CtA et CtB possèdent respectivement des groupements formyle et acétyle sur l'amine- α de Dpr. Les différents auteurs ont introduit les groupements formyle et acétyle sur le Dpr assez rapidement dans le schéma synthétique global.

Pour notre synthèse du CtC, il semblait raisonnable d'envisager l'introduction du groupement formyle le plus tôt possible. En effet, le groupement formyle⁸⁶, tout comme le groupement acétyle⁸⁷ peuvent être considérés comme des groupements protecteurs d'amines.

III.1.2.c. Synthèse du résidu Dpr

Après avoir analysé les différentes méthodes d'obtention du résidu Dpr de la littérature, deux méthodes nous ont semblées plus attrayantes : la transformation de Ser en lactone suivie de son ouverture en Dpr et la méthode faisant intervenir un réarrangement d'Hofmann sur Asn. Nous avons retenu la seconde pour des raisons de simplicité de mise en œuvre et nous avons envisagé deux voies de synthèses (**Figure 23**) :

⁸⁶ T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Edn.*, 1999, Wiley, New-York, p 550-552.

⁸⁷ T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Edn.*, 1999, Wiley, New-York, p 552-555.

-la première voie de synthèse proposée commencerait à partir de l'asparagine commerciale (Asn) sur laquelle serait directement introduit un groupement formyle (CHO) sur l'amine- α . Le résidu **183** ainsi obtenu, subirait ensuite un réarrangement de Hofmann puis une protection de l'amine- β par un Boc pour conduire au dérivé **184**.

-la seconde voie ferait intervenir tout d'abord une protection de l'amine- α de l'asparagine par un groupement Cbz pour donner le résidu **185**, qui subirait aussi un réarrangement en Dpr avant d'être protégé par un Boc pour donner le composé **59**, identique à celui obtenu par Schreiber⁴⁶ et Shiori⁴⁸ (**Figure 23**).

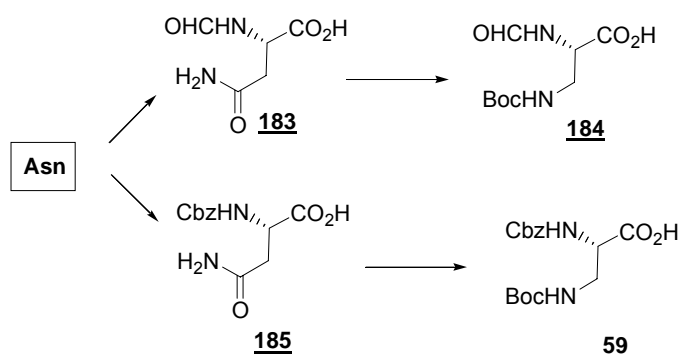


Figure 23. Les synthèses envisagées des résidus Dpr 184 et 59

La première de ces voies envisagée implique la présence du formyle dès le départ ce qui la rend plus attrayante. Pour réaliser cette synthèse nous avons introduit un groupement formyle (CHO) sur l'azote- α de l'asparagine (Asn) suivant les conditions décrites dans la littérature⁸³. Nous avons synthétisé le dérivé *N*-CHO-Asn **183** à l'aide d'anhydride mixte formique et acétique avec un très bon rendement de 83% (**Schéma 31**). Le composé **183** a ensuite été soumis à une réaction de réarrangement de Hofmann utilisant le PIFA pour conduire au *N* ^{α} -CHO-Dpr souhaité.

Le résidu Dpr ainsi obtenu n'ayant pas pu être isolé dans de bonnes conditions, il a été directement protégé au niveau de l'amine- β pour fournir en deux étapes le *N* ^{α} -CHO-*N* ^{β} -Boc-Dpr **184** avec un rendement de 50% (**Schéma 31**). Malheureusement, la non reproductibilité de cette séquence réactionnelle pour l'obtention de **184** nous a incité à abandonner cette voie de synthèse et à développer une seconde approche.

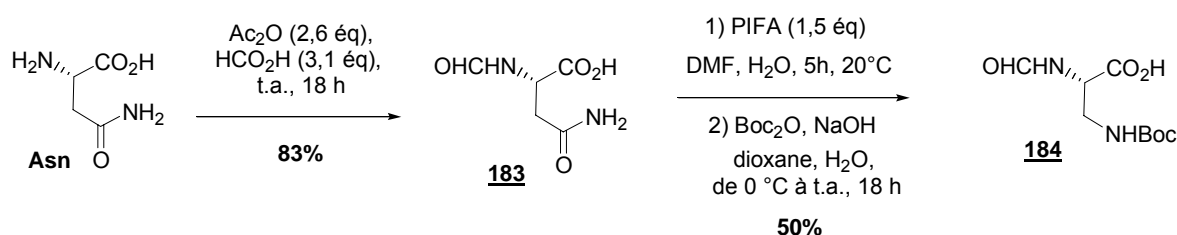


Schéma 31

Nous avons poursuivi notre travail sur la synthèse du résidu Dpr en utilisant la procédure de Izumiya⁸² pour obtenir le résidu *N*-Cbz-Dpr **171a** (**Schéma 32**). Pour cela, nous avons préféré la protection de Asn par un Cbz au lieu du formyle, ce qui a été réalisée à l'aide du CbzCl avec un rendement en **185** de 74%.

La deuxième étape est primordiale pour l'obtention du Dpr, puisqu'il s'agit du réarrangement de Hofmann générant l'azote-β du Dpr (**Schéma 32**). Le produit brut obtenu par réarrangement à l'aide de PIDA (réactif d'iode hypervalent plus simple et moins coûteux que le PIFA) du dérivé Asn **185**, a été lavé plusieurs fois avec de l'acétate d'éthyle glaciale pour donner le résidu Dpr **171a** pur avec un rendement de 86%, ayant des caractéristiques spectrales conformes à la littérature⁷⁹.

La troisième étape est la protection de l'azote-β du composé *N*^α-Cbz-Dpr **171a** par un groupement orthogonale Boc à l'aide de Boc₂O pour obtenir le Dpr **59** avec 97% de rendement⁸⁸. L'acide aminé Dpr ainsi orthogonalement protégé sous forme de *N*^α-Cbz-*N*^β-Boc-Dpr **59**, a été obtenu avec un bon rendement global de 62% en 3 étapes (**Schéma 32**).

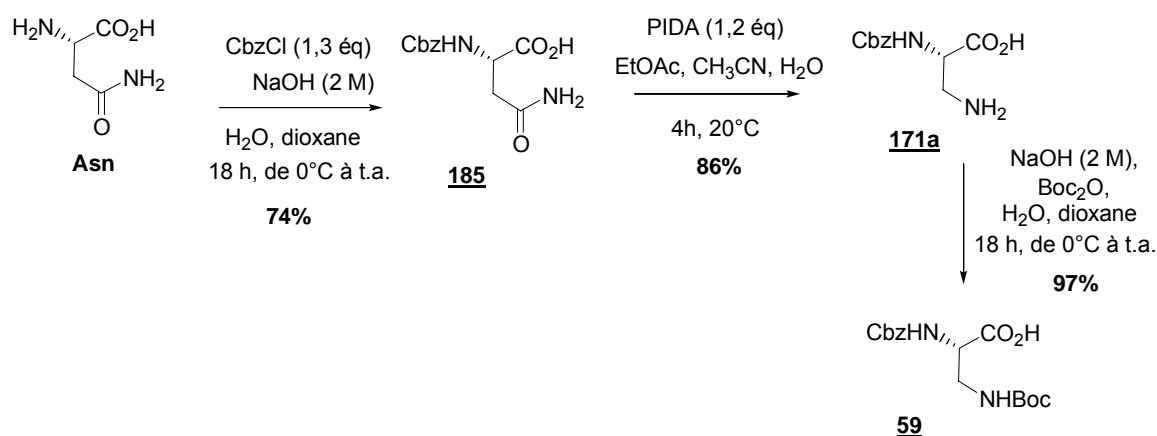


Schéma 32

III.1.2.d. Obtention du dipeptide *N*^α-CHO-*N*^β-Boc-Dpr-Pro

Les problèmes de reproductibilité et d'isolement rencontrés lors du réarrangement d'Hofmann sur le composé **183**, nous ont amenés à repousser le moment de l'introduction du groupement formyle sur le résidu Dpr. Nous avons donc décidé d'incorporer le dérivé Dpr **59** dans un dipeptide avant d'introduire le formyle sur l'amine-α. Le *N*^α-Cbz-*N*^β-Boc-Dpr **59** a

⁸⁸ T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Edn.*, 1999, Wiley, New-York, p 518-525.

donc été couplé avec l'amine secondaire de Pro-OBn **186** commercial, à l'aide d'EDCi **11** et HOBt **12** pour obtenir le dipeptide **187** avec un bon rendement de 87% (**Schéma 33**).

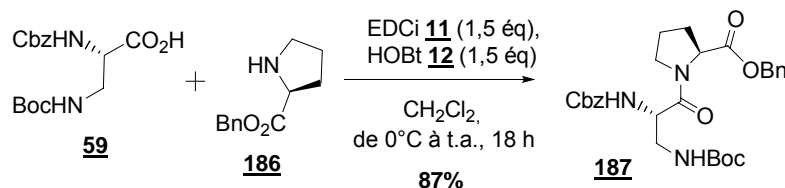


Schéma 33

Le dipeptide protégé **187** a été hydrogéné en présence de palladium sur charbon (10%) comme catalyseur afin de libérer dans des conditions douces l'acide carboxylique et l'amine- α aux deux extrémités C et N-terminales. Le dipeptide **188** ainsi obtenu est très sensible aux conditions de température et de solvant puisqu'il tend à se cycliser pour donner de façon irréversible la dicétopipérazine **189** correspondante (**Schéma 34**). Pour minimiser cette réaction parasite, la formylation a dû être réalisée dans des conditions douces afin d'obtenir le dipeptide **160** de façon majoritaire. (**Schéma 34**, **Tableau 5**).

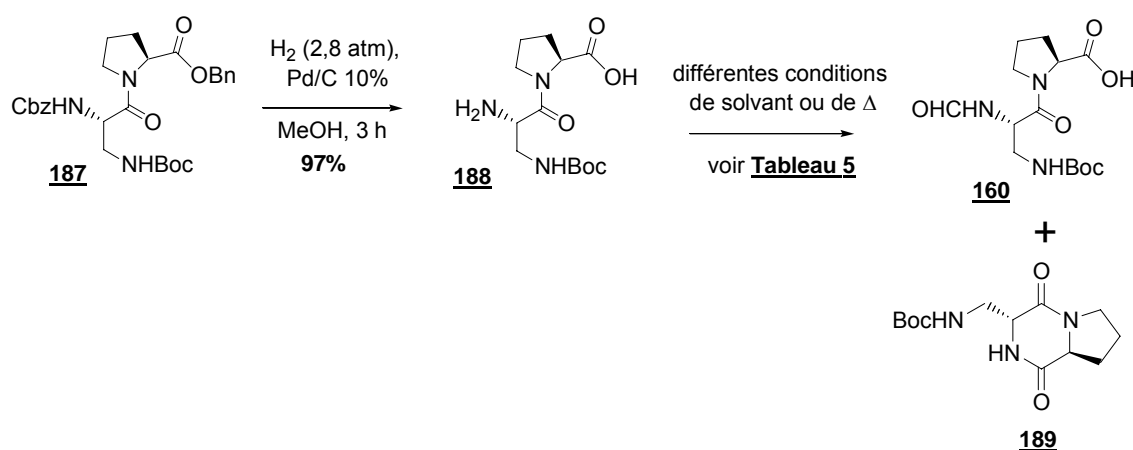


Schéma 34

La littérature fait état de plusieurs conditions de formylation, notamment avec le 2,2,2-trifluoroéthyl formate (TFEF)⁸⁹, ou avec un mélange d'anhydride acétique et d'acide formique^{90,91}. Nous avons testé différentes conditions de l'utilisation de l'anhydride mixte (acétique-formique), avec un ajustement de la température de réaction. Une formylation menée à une température inférieure à 10 °C a donné les meilleurs résultats (**Tableau 5**, entrée 4).

⁸⁹ D. R. Hill, C.-N. Hsiao, R. Kurukulasuriya, S. J. Wittenberger, *Org. Lett.* **2002**, 4, 111-113.

⁹⁰ S. Krishnamurthy, *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 3315-3318.

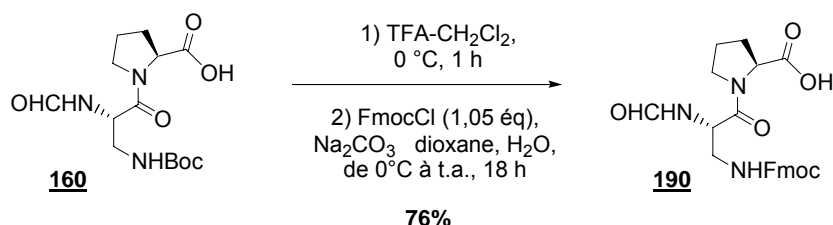
⁹¹ M. D. Meyer, R. J. Altenbach, H. Bai, F. Z. Basha, W. A. Carroll, J. F. Kerwin, S. A. Lebold, M. E. Brune, S. A. Buckner, A. A. Hancock, I. Drizin, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 1971-1985.

Tableau 5. Formylation du dipeptide 188

| Entrée | Réactifs de formylation | Conditions | Rdt en 189 | Rdt en 160 |
|----------|--|-------------------------------|-------------------|-------------------|
| 1 | TFEF (10 eq) | 18h à t.a., puis 6 h à 100 °C | 42% | - |
| 2 | HCO ₂ H/Ac ₂ O (3,1/2,6 eq) | 50 °C 5 min puis 3 h à t.a. | Pas récupéré | 41 % |
| 3 | HCO ₂ H/Ac ₂ O (15/13 eq) | 2 h à 15 °C | Pas récupéré | 66% |
| 4 | HCO₂H/Ac₂O (3,1/2,6 eq) | 2 h à 8-10 °C | 10% | 82%* |

*Pour la synthèse du dipeptide **160** sur petite quantité le rendement diminue à 69% alors que celui de **189** augmente à 21%.

Ayant établi une synthèse efficace de l'acide N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr-Pro **160**, nous avons préparé un second dipeptide qui possède un groupement Fmoc à la place du Boc sur l'amine- β de Dpr (**Schéma 35**). Par cette différence de protection, le dipeptide **190** sera complémentaire à **160** pour l'assemblage des peptides électrophiles et nucléophiles. Le dipeptide N^{β} -Fmoc- N^{α} -CHO-Dpr-Pro **190** a été obtenu en 2 étapes à partir de **160** par une séquence déprotection-reprotection (voir section III.1.1) avec un rendement de 76%.

**Schéma 35**

III.1.3. Synthèse du fragment tripeptide aldéhyde

Nous avons décidé de synthétiser le tripeptide N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr-Pro- N^{δ},N^{ϵ} -(Cbz)₂-Arg-CHO **157** à partir du tripeptide amide de Weinreb correspondant **191**. Cet amide de Weinreb **191** a été obtenu par couplage peptidique à l'aide d'EDCi **11**, entre le dipeptide N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr-Pro **160** et l'amine libre obtenue après déprotection de l'amide de Weinreb de l'arginine **168** avec un rendement de 91% (**Schéma 36**).

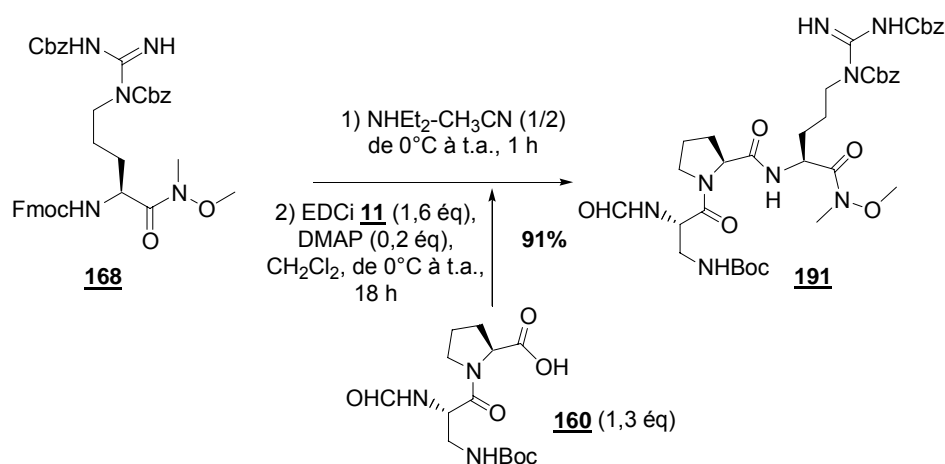


Schéma 36

Nous avons ensuite réduit le tripeptide N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr-Pro- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz)₂-Arg-N(OMe)Me **191** avec LiAlH₄, comme précédemment (section III.1.1.), pour obtenir le tripeptide aldéhydique **157** avec un rendement faible de 56%, après une purification rapide sur gel de silice (**Schéma 37**). Cependant, au vu des analyses par CCM et RMN ¹H du brut réactionnel, cette réduction semble ne pas engendrer trop de produits secondaires et le produit s'est sans doute dégradé sur silice. Nous devrions sans doute utiliser dans l'avenir cet aldéhyde **157** sans purification, avant de l'introduire dans les réactions de couplage suivantes.

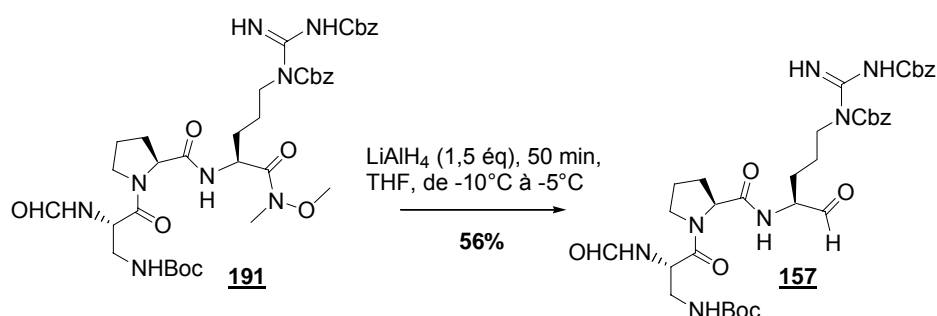


Schéma 37

III.2. Synthèses des électrophiles α-cétocyanophosphoranes

Il faut bien se rappeler que les réels électrophiles utilisés lors de la stratégie « KAC » sont des α-cétoacylcyanures : des intermédiaires trop réactifs pour être isolés. Nous allons donc décrire dans cette partie les précurseurs α-cétocyanophosphoranes **126** et **159** (voir section II.2, **Figure 20**). Dans les années 1990, le groupe de Wasserman a développé la

chimie des α -cétocyanophosphoranes, qui sont des électrophiles permettant après ozonolyse l'obtention d'esters ou d'amides α -dicarbonylés^{62,92} et même α -tricarbonylés^{63a-c}.

III.2.1. Synthèse des α -cétocyanophosphoranes dérivés de Arg

L'arginine α -cétocyanophosphorane **126** a été synthétisée en une seule étape à partir du dérivé N^{α} -Boc- N^{δ},N^{ϵ} -(Cbz)₂-Arg **162** par un couplage peptidique avec le (cyanométhylène)triphénylphosphorane **192** en présence d'EDCi **11** et de diméthylaminopyridine (DMAP) en quantité catalytique (**Schéma 38**)^{51a,b}. Nous avons constaté que l'ordre d'addition des réactifs est primordial pour obtenir le α -cétocyanophosphorane **126** avec un bon rendement. En effet, il faut tout d'abord activé l'acide carboxylique **162** par le carbodiimide puis additionner dans un deuxième temps un excès de (cyanométhylène)triphénylphosphorane **192** (**Schéma 38**). Par ce protocole nous avons synthétisé le résidu N^{α} -Boc- N^{δ},N^{ϵ} -(Cbz)₂-Arg-C(PPh₃)CN **126** avec un bon rendement de 77%.

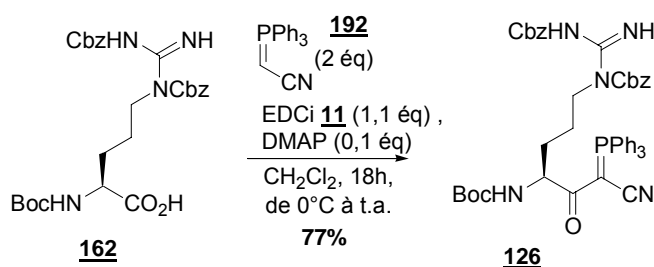


Schéma 38

III.2.2. Synthèse du fragment tripeptide α -cétocyanophosphorane

La synthèse du tripeptide α -cétocyanophosphorane N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr-Pro- N^{δ},N^{ϵ} -(Cbz)₂-Arg-C(PPh₃)CN **159** a été beaucoup plus difficile que celles des dérivés d'arginine **158**. Deux approches sont envisageables pour l'obtention de peptides α -cétocyanophosphoranes :

- la préparation d'un peptide linéaire puis le couplage avec le (cyanométhylène)triphénylphosphorane **192** en dernière étape.

- le couplage entre l'amine libre d'un aminoacide α -cétocyanophosphorane et l'acide d'un peptide.

⁹² H. H. Wasserman, A. K. Petersen, M. Xia, *Tetrahedron* **2003**, 59, 6771-6784.

III.2.2.a. Obtention d'un tripeptide α -cétocyanophosphorane par couplage entre un tripeptide linéaire et le (cyanométhylène)triphenylphosphorane

Wasserman n'a décrit qu'un seul exemple d'obtention de tripeptide α -cétocyanophosphorane **194** et ceci à partir d'un tripeptide très simple Cbz-Ala-Gly-Gly **193** avec un bon rendement de 64%⁶². Il a également décrit à partir du tripeptide très simple, le Cbz-Ile-Gly-Gly **195**, l'obtention de l' α -cétocarboxyphosphorane **197**, avec un rendement de 41% (**Schéma 39**)^{63b}.

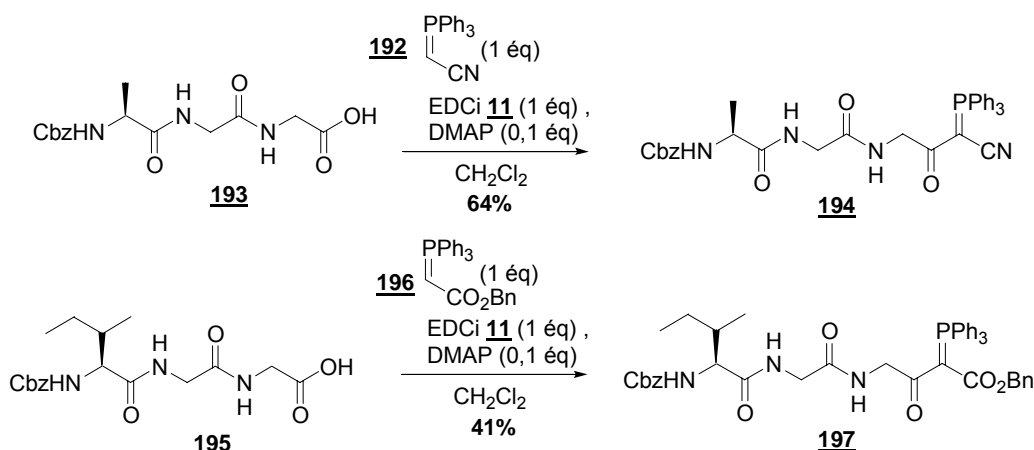


Schéma 39

Nous avons essayé cette stratégie, en introduisant le cyanophosphorane directement sur le tripeptide N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr-Pro- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz)₂-Arg **199** (**Schéma 41**). L'ester méthylique de l'arginine **198** a été préparé à partir du résidu **162** à l'aide de chlorure de thionyle en présence de chlorure d'hydrogène dans le CH₂Cl₂ avec un rendement de 75% (**Schéma 40**). Le tripeptide linéaire **199** a ensuite été synthétisé en deux étapes, par couplage entre le dipeptide **160** obtenu précédemment (section III.1.2.d) avec l'ester **198**, suivi d'une saponification à l'aide de lithine avec un rendement global de 60%.

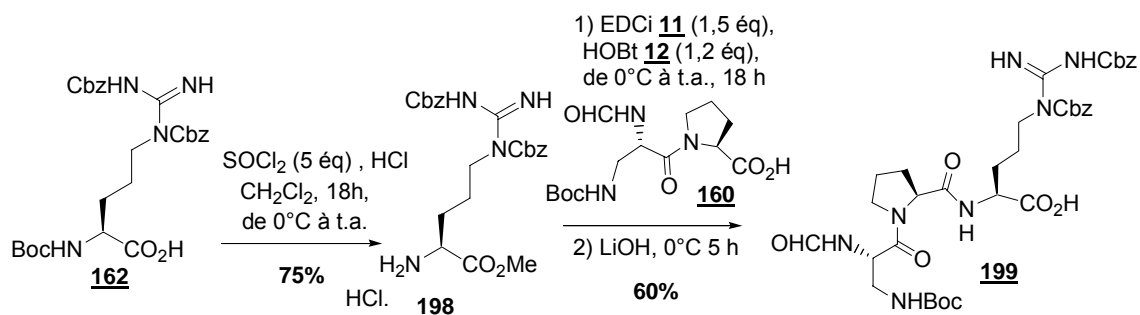


Schéma 40

Nous avons tout d'abord essayé le couplage peptidique de l'acide **199** avec le (cyanométhylène)triphenylphosphorane **192**, mais n'avons jamais pu isoler le tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** (**Schéma 41**). Nous avons ensuite souhaité préactiver notre acide carboxylique **198** en ester de pentafluorophényle **200**. Pour cela le tripeptide **198** a été couplé avec le pentafluorophénol en présence de DCC **10** avec un rendement en tripeptide **200** de 60% (**Schéma 41**). Mais une nouvelle fois notre tentative pour obtenir le tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** désiré par un couplage avec le phosphorane **193** dans des conditions douces a échoué.

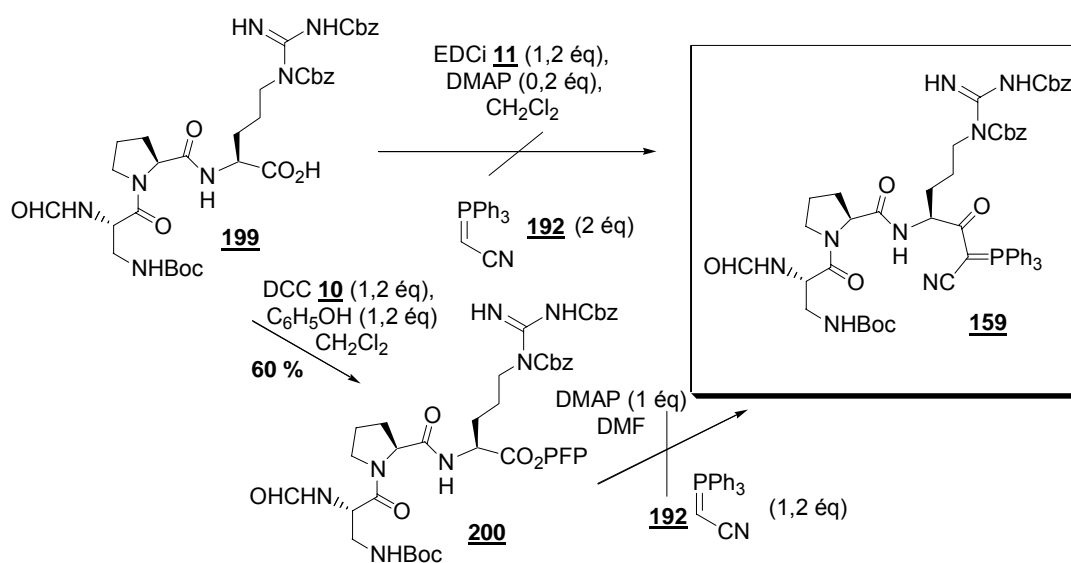


Schéma 41

III.2.2.b. Obtention d'un tripeptide α -cétocyanophosphorane par développement d'un aminoacide α -cétocyanophosphorane

La seconde possibilité pour obtenir des di- ou tripeptides α -cétocyanophosphoranes est le développement d'acides aminés comportant le motif α -cétocyanophosphorane. Les exemples de couplages peptidiques impliquant un partenaire amine qui contient le motif cyanophosphorane sont également très rares dans la littérature^{93,94}. La synthèse du tripeptide α -cétocyanophosphorane **203** a été réalisée par l'équipe de Wasserman en deux étapes à partir du dérivé α -cétocyanophosphorane de la L-postine **201** par déprotection puis couplage avec le dipeptide Cbz-Val-Val **202**, avec un rendement de 37% (**Schéma 42**)⁹³. Lors de la synthèse de l'eurystatine A, le dipeptide α -cétocyanophosphorane **206** a été synthétisé à partir de la Fmoc-Ala-C(PPh₃)CN **204** avec un rendement de 56% sur deux étapes (**Schéma 42**)⁹⁴.

⁹³ H. H. Wasserman, A. K. Petersen, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 953-956.

⁹⁴ H. H. Wasserman, A. K. Petersen, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 8972-8973.

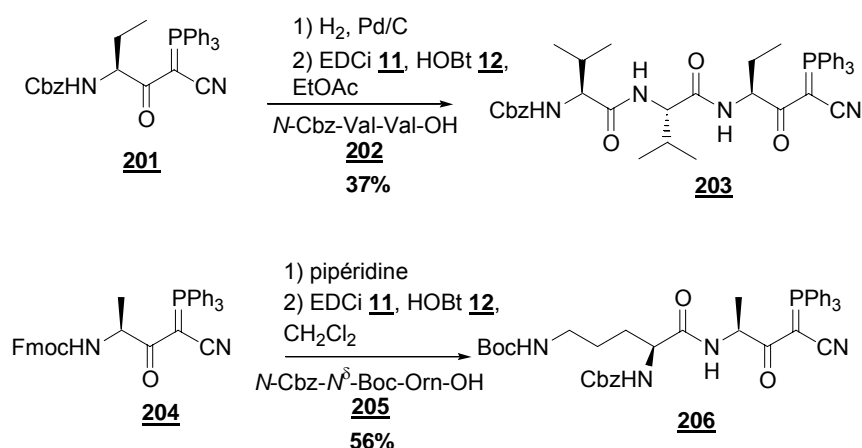


Schéma 42

Un autre groupe a publié en 2002 la synthèse d'un tripeptide α-cétocyanophosphorane, le composé **211** par deux couplages peptidiques successifs à l'aide d'EDCi **11** et HOBT **12** avec un rendement global de 37% sur 4 étapes (**Schéma 43**)⁹⁵.

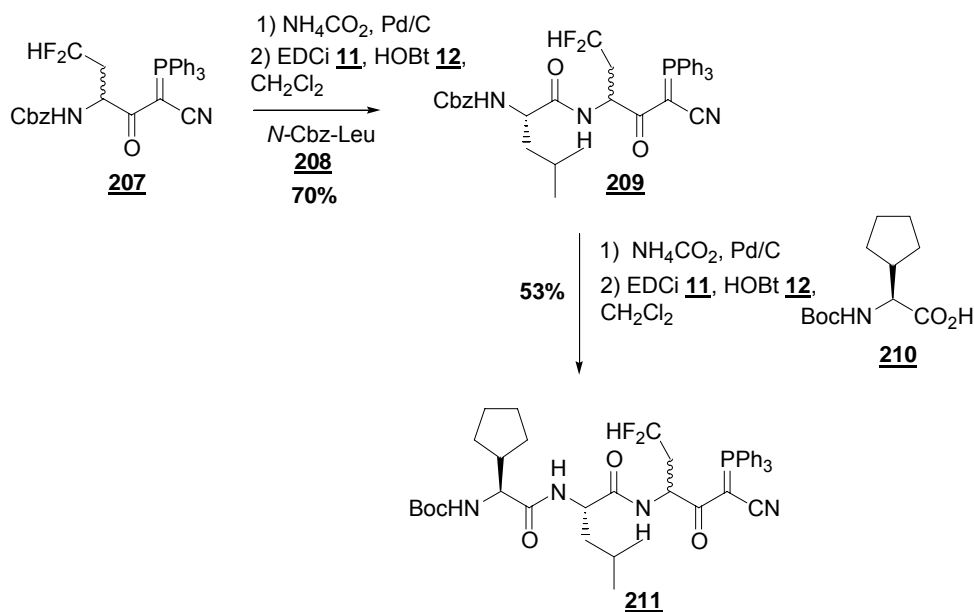


Schéma 43

Quand on répertorie la totalité des publications de synthèses α-cétocyanophosphoranes, on s'aperçoit que presque tous les peptides (di ou tripeptides) synthétisés sont obtenus en deux étapes avec premièrement une étape très importante de déprotection par hydrogénolyse d'un groupement protecteur Cbz des α-cétocyanophosphoranes **212**, ou bien par clivage basique d'un groupement protecteur Fmoc des α-cétocyanophosphoranes **213** pour obtenir une amine libre **214** (**Schéma 44**).

⁹⁵ S. Colarusso, B. Gerlach, U. Koch, E. Muraglia, I. Conte, I. Stansfield, V. G. Matassa, F. Narjes, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 705-708.

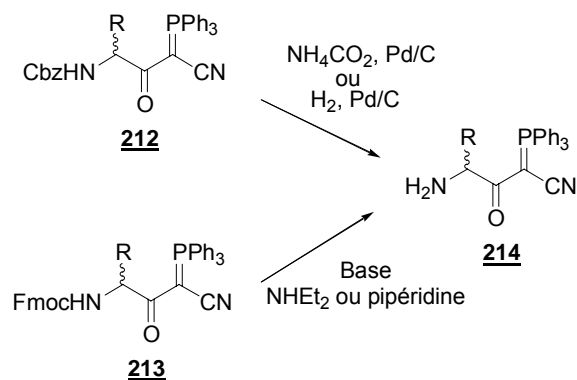


Schéma 44

Or le groupe de Wasserman a utilisé à deux reprises un groupement protecteur Boc pour une opération comparable :

-la première sur l'azote de l'α-céto-β-aminocyanophosphorane **126** qui a été déprotégé par du TFA en solution dans le CH_2Cl_2 , et ceci dans le cadre de la synthèse des CtE_2 et CtE_3 (**Schéma 45**)⁵¹. Wasserman et coll. ont synthétisé ce tripeptide α-cétocyanophosphorane **129** avec un excellent rendement de 78 %, alors que les rendements des autres couplages de ce type présent dans la littérature pour des molécules plus simples, sont compris entre 37% et 56% (**Schémas 42 et 43**).

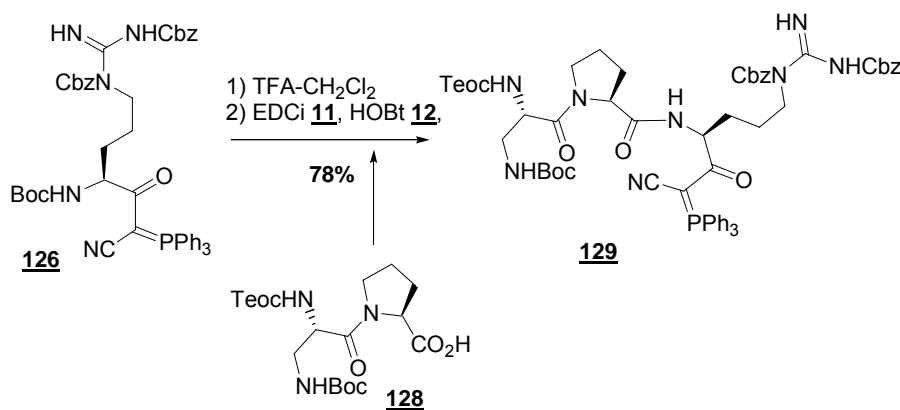
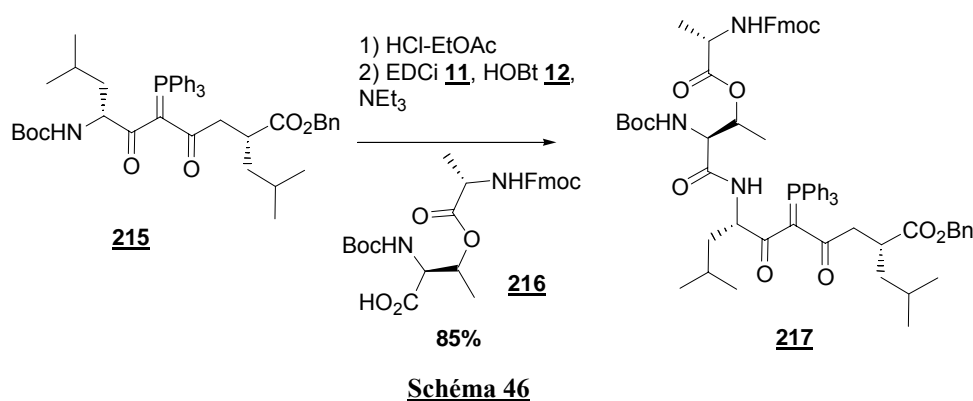


Schéma 45

-le second exemple a été décrit pour la synthèse du tétrapeptide α-dicétocyanophosphorane **217** (**Schéma 46**)⁹⁶. Le tétrapeptide **217** a été obtenu à partir du dipeptide **215** qui a été déprotégé de son Boc par l'utilisation d'une solution de chlorure d'hydrogène dans l'acétate d'éthyle, suivi d'un couplage avec le dipeptide **216** avec un rendement de 85 %, encore meilleure que pour l'obtention de **129** (**Schéma 45**).

⁹⁶ Revue : H. H. Wasserman, J.-H. Chen, M. Xia, *Helv. Chim. Acta* **2002**, 83, 2607-2616.



Nous avons tenté un couplage similaire à ce qu'a décrit par Wasserman, avec comme différence l'identité du groupement porté par l'azote- α du Dpr. L'arginine cyanophosphorane N^α -Boc- N^δ, N^ϵ -(Cbz)₂-Arg-C(PPh₃)CN **126** a été déprotégée sélectivement par traitement avec du TFA, puis l'amine libre **218b** (Voie B) a été couplée avec le dipeptide **160** dans les conditions décrites par Wasserman (**Schéma 47**, **Tableau 6**, entrée 1). Le produit **159** attendu n'a pas été obtenu. Les conditions ont donc été modifiées par ajout de DMAP (qui permet une meilleure solubilisation de dipeptide **160**) pour obtenir le tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** avec un rendement de 24% en deux étapes (**Schéma 47**, **Tableau 6**, entrée 2). Au vue de ce résultat moyen qui de plus n'était pas reproductible, nous avons étudié d'autres réactifs de couplage^{97,98} en essayant dans certains cas de libérer l'amine **218b** *in situ* du sel de TFA **218a** (Voie A), afin d'améliorer l'obtention du tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** (**Schéma 47**). Or, aucune des conditions examinées n'ont permis l'isolement de **159**, avec de bons rendements et de manière reproductible (**Tableau 6**, entrée 1-3).

⁹⁷ J. Coste, E. Frérot, P. Jouin, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 2437-2446.

⁹⁸ M. Carmignani, A. R. Volpe, B. Botta, R. Espinal, S. C. de Bonnevaux, C. de Luca, M. Botta, F. Corelli, A. Taffi, R. Sacco, G. D. Monache, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2950-2958.

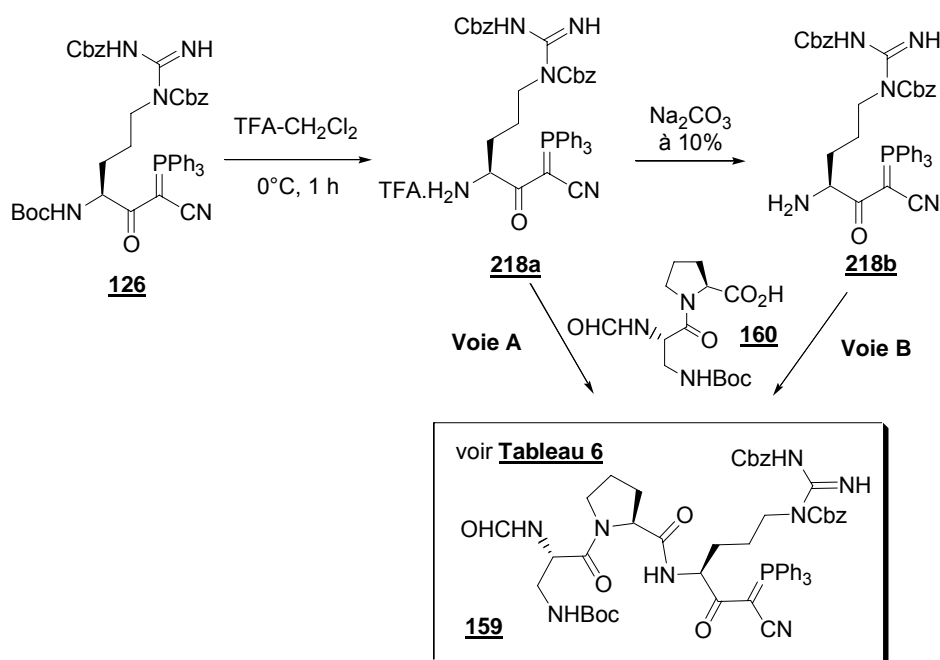


Schéma 47

Tableau 6. Couplages de l'arginine α -céto cyanophosphorane 126 pour obtenir le tripeptide 159

| Entrée | Voie | Réactifs de couplage | Bases | Solvant | Rdt en 159 |
|----------|----------|----------------------|--|---------------------------------------|----------------------|
| 1 | B | EDCI (1,05 éq) | HOBt (1,0 éq) | CH ₂ Cl ₂ | - |
| 2 | B | EDCI (1,2 éq) | DMAP (0,2 éq) | CH₂Cl₂ | 24% |
| 3 | A | PyBrop (1 éq) | <i>i</i> -PrN ₂ Et (2 éq) | CH ₂ Cl ₂ + DMF | 5% |
| 4 | A | DPPCI (1,2 éq) | <i>i</i> -PrN ₂ Et (2,2 éq) | CH ₂ Cl ₂ | 11% |
| 5 | A | PyBOP (1,2 éq) | Et ₃ N (1 éq), DMAP (1,2 éq) | CH ₂ Cl ₂ | - |
| 6 | B | PyBOP (1 éq) | DMAP (1 éq) | CH ₂ Cl ₂ | - |
| 7 | B | PyBOP (1 éq) | <i>i</i> -PrN ₂ Et (2 éq) | CH ₂ Cl ₂ | - |
| 8 | A | BOPCl (1,1 éq) | Et ₃ N (3,3 éq) | CH ₂ Cl ₂ | * |
| 9 | A | BOPCl (1,5 éq) | <i>i</i> -PrN ₂ Et (2,7 éq), DMAP (0,2 éq) | CH ₂ Cl ₂ | * |

* récupération de la quasi-totalité du dipeptide **160**

Afin d'analyser cet échec et pour savoir si la seule présence du groupement formyle sur l'amine- α du Dpr posait un problème réel, nous avons repris la synthèse décrite par Wasserman pour le composé **129** (Schéma 45)^{51a,b}. Ainsi nous avons reproduit quasiment la même synthèse que Wasserman pour l'obtention du dipeptide **128**, en partant du composé

186, avec des rendements similaires à ceux de la littérature (**Schéma 48**)^{51a,b}. Nous avons pu ainsi coupler dans les conditions exactes de la littérature le dipeptide **128** avec le α -cétocyanophosphorane **126** après avoir libéré l'amine à l'aide de TFA. Nous avons constaté une très nette différence avec les résultats annoncés par Wasserman (**Schémas 45 et 48**), car nous avons obtenu le tripeptide α -cétocyanophosphorane **129** avec un rendement très faible de 26% au lieu de 78% décrit dans la publication^{51b}.

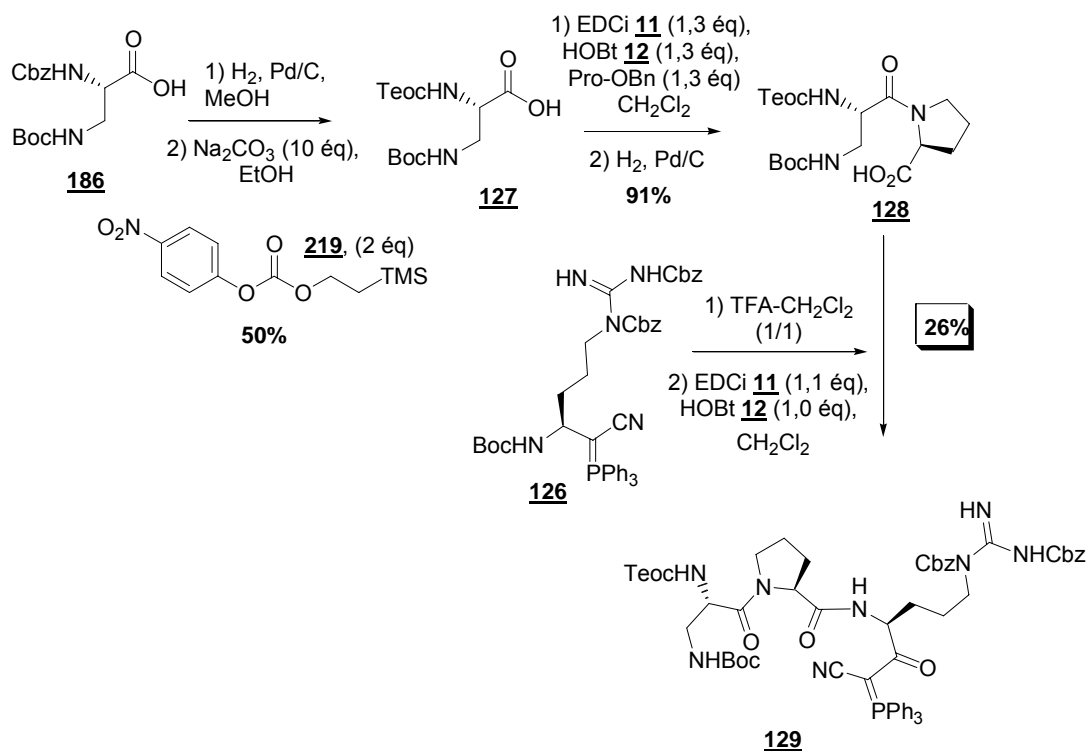


Schéma 48

Le groupement formyle n'a donc pas été la cause de notre échec et nous avons émis l'hypothèse d'une dégradation partielle de l' α -cétocyanophosphorane **126** lors de la déprotection en milieu acide.

Ayant presque terminée cette étude, nous avons voulu tenter la synthèse du tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** à partir d'un autre dérivé d'arginine α -cétocyanophosphorane comportant un groupement protecteur labile dans des conditions basiques. Nous avons donc envisagé la préparation d'un nouveau résidu α -cétocyanophosphorane de l'arginine, le dérivé **221** en trois étapes à partir de Arg **162** (**Schéma 49**). Dans un premier temps, nous avons changé le groupement protecteur de l'azote- α Boc par un Fmoc, selon une séquence déprotection-reprotection, pour obtenir l'arginine protégée **220** avec un rendement de 68%. Le résidu **220** a ensuite été couplé avec le (cyanométhylène)triphenylphosphorane **192** à l'aide d'EDCI **11** et de DMAP, pour obtenir le résidu $N^\alpha\text{-CHO-}N^\beta\text{-Fmoc-Dpr-Pro-}N^\delta, N^\epsilon\text{-(Cbz)}_2\text{-Arg-C(PPh}_3\text{)CN} **221** avec un rendement de 41% (**Schéma 49**).$

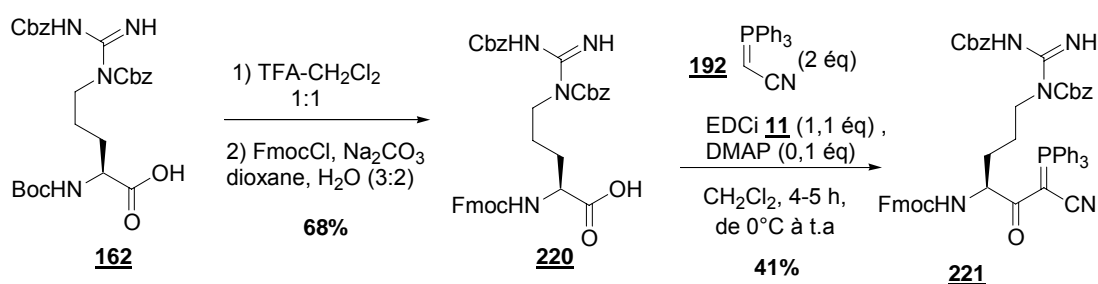


Schéma 49

La déprotection du dérivé α -cétocyanophosphorane **221** a été effectuée dans des conditions basiques, par une solution de diéthylamine dans l'acétonitrile pour couper le groupement protecteur Fmoc. Cette dernière tentative de couplage avec le dipeptide **160** en présence d'EDCI **11** et de DMAP a été concluante, puisque nous avons réussi à synthétiser le tripeptide N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr-Pro- N^{δ} - N^{ϵ} -(Cbz)₂-Arg-C(PPh₃)CN **159** avec un rendement très satisfaisant de 75% sur deux étapes (**Schéma 50**).

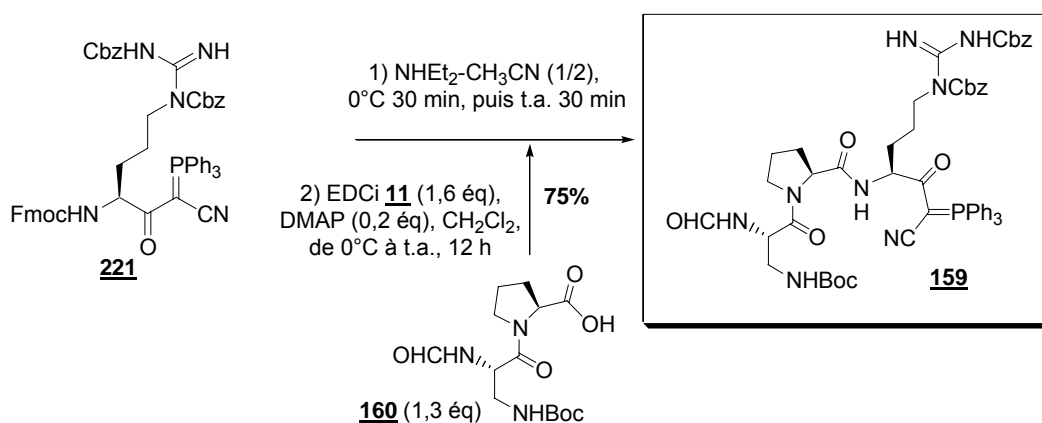


Schéma 50

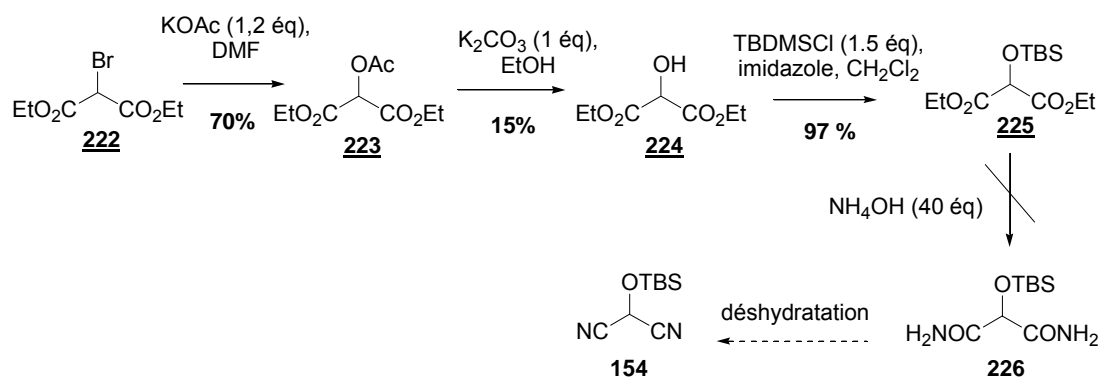
Il est à noter que le rendement de cette préparation de **159** n'a pas été reproductible pour de plus grosses quantités à partir de **221** (1-3 grammes) où les rendements ont été de l'ordre de 50-55%. Ceci est tout de même bien supérieur aux rendements obtenus dans les préparations du tripeptide **159** à partir de **126**. Nous avons appris de cette étude que les α -cétocyanophosphoranes sont assez sensibles aux conditions acides et que pour résoudre cette compatibilité chimique, il est préférable de protéger les azotes par des groupements Fmoc, qui peuvent être enlevés en milieu basique.

Pour pouvoir étudier les couplages par ozonolyse nous avons synthétisé les électrophiles α -cétocyanophosphoranes dérivés d'arginine **126** et **221** en respectivement 3 étapes avec 50% de rendement et en 5 étapes avec 19% de rendement à partir du composé commercial N -Boc-Arg.HCl **161**. Le tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** a été synthétisé pour sa part en 7 étapes avec un rendement global de 14,2% à partir du même produit de

départ **161**. Les α -cétocyanophosphoranes sont des produits assez sensibles, car se sont des ylures stabilisés auxquels on peut attribuer un caractère très réactif. En effet par l'analyse RMN ^{13}C nous avons noté que le carbone quaternaire de la cétone des α -cétocyanophosphoranes est très déblindé (195-200 ppm). De plus, nous avons observé une dégradation du tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** après une semaine au réfrigérateur (voir partie expérimentale, Chapitre VII).

III.3. Synthèse du réactif umpolung MAC

Le réactif silyloxymalonodinitrile appelé réactif MAC « Masked acyl cyanide » **154** a été utilisé par Nemoto pour des réactions à plusieurs composants pour la synthèse de composé α -silyloxyamides. Deux voies ont été décrites pour la préparation de MAC **154** : l'une en 5 étapes partant du bromomalonate de diéthyle **222** (**Schéma 51**)⁹⁹ et l'autre en 3 étapes partant du malonodinitrile **227** (**Schéma 52**)^{100, 101}.



La première méthode de préparation de **154** a été tentée mais s'est avérée très laborieuse. En effet, l' α -hydroxymalonate de diéthyle **223** n'a pas pu être isolé dans de bonnes conditions, car il est très volatil (Rdt = 15%) (**Schéma 51**). Les autres étapes menant au composé **225** ont été réalisées conformément à la littérature⁹⁹, mais l'obtention du dérivé **226** par aminolyse du di-ester **225** à l'aide d'ammoniaque a échoué.

Nous avons donc été contents de voir apparaître la publication en 2003 de l'autre voie d'accès au MAC **154**, qui est beaucoup plus synthétique¹⁰¹. Nous avons acétylé le malonodinitrile commercial **227**, par de l'anhydride acétique en présence d'une base faible pour obtenir le composé **228** avec un rendement de 47% (**Schéma 52**)¹⁰⁰. Puis nous avons repris le travail de

⁹⁹ H. Nemoto, Y. Kubota, Y. Yamamoto, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 4515-4516.

¹⁰⁰ E. Diez-Barra, A. Hoz, A. Moreno, P. Sanchez-Verdu, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1991**, 2589-2592.

¹⁰¹ H. Nemoto, X. Li, R. Ma, I. Suzuki, M. Shibuya, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 73-75.

Nemoto et coll.¹⁰¹, pour préparer le MAC **154**, en deux étapes successives : la première, par action d'acide peracétique sur **228** est l'étape clé pour l'obtention de l' α -hydroxymalonodinitrile intermédiaire **229**, puis la seconde par protection de l'hydroxy en éther silylé avec le chlorure de tertbutyldiméthylsilyle (TBSCl).

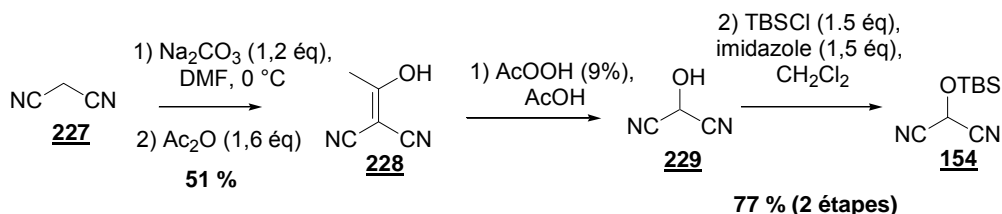


Schéma 52

Les auteurs proposent pour le passage du composé de **228** à **229** une réaction dont le mécanisme passerait probablement par l'époxyde **230a**, qui serait ouvert en milieu acide pour éliminer le groupement acétate et conduire au produit désiré **229** (**Schéma 53**)¹⁰¹.

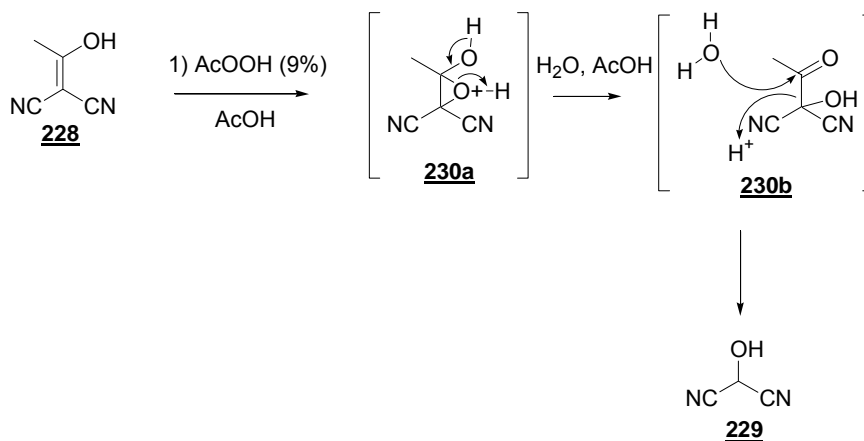


Schéma 53

Le protocole expérimental décrit par Nemoto¹⁰¹ pour la transformation du composé **228** en **229**, est assez délicat et il est important d'utiliser une solution d'acide peracétique de bonne qualité pour réaliser l'oxydation de la double liaison avec un rendement satisfaisant. Selon les auteurs, l' α -hydroxymalonodinitrile **229** est sensible et ne peut être isolé, c'est pourquoi ils préconisent une évaporation à sec sans isolement avant d'engager **229** dans l'étape suivante. En appliquant ce mode opératoire, nous avons rencontré des problèmes de dégradation. Cependant, nous avons constaté que le produit **229** était soluble dans l'acétate d'éthyle, ce qui permettait d'enlever par lavages aqueux les excès de réactifs et d'acide. Ainsi, nous avons mis au point un protocole peu dangereux et applicable sur grande quantité pour la synthèse de MAC **154**. Ceci nous a permis de synthétiser le composé **154** en trois étapes à partir du malonodinitrile **227** avec un rendement global de 39%.

III.4. Bilan synthétique de la préparation des fragments électrophiles peptidiques

Pour clôturer ce chapitre, nous ferons ici le bilan des synthèses des différents fragments électrophiles peptidiques que nous avons envisagés lors de notre analyse rétrosynthétique de CtC (section II.1).

Dans un premier temps, nous avons synthétisé les α -aminoaldéhydes : l'argininal N^α -Boc- N^δ, N^ϵ -(Cbz)₂-Arg-CHO **152a** et le tripeptide N^α -CHO- N^β -Boc-Dpr-Pro- N^δ, N^ϵ -(Cbz)₂-Arg-CHO **157** (**Schéma 54**). Pour cela, nous avons retenu une voie de synthèse passant par l'intermédiaire des amides de Weinreb **167** et **191**, qui ont été réduits au LAH avec des rendements respectifs de 75% et 56% (sections II.1.1 et II.1.3). Cette méthode semble efficace et prometteuse, puisque l'obtention du tripeptide aldéhydique **157** a été assez aisée, ce qui n'est pas commun dans la littérature. Nous avons ensuite préparé par cette même méthode l'argininal N^α -Fmoc- N^δ, N^ϵ -(Cbz)₂-Arg-CHO **152b** avec un rendement de 57%. Cet argininal **152b** a été synthétisé pour étoffer la gamme d'aldéhyde, parce qu'il est orthogonalement protégé sur l'amine- α par rapport à l'argininal **152a** et qu'il pourra être utilisé pour les stratégies « PAM » et « MAC » que nous verrons au chapitre V.

Dans ce chapitre, nous avons préparé des tripeptides comportant un résidu non protéinogénique assez original : le Dpr. Pour obtenir ce résidu Dpr, nous avons essayé deux approches (section III.1.2.c) :

-la première par formylation de l'asparagine avec un mélange d'anhydride mixte (acétique-formique), suivit d'un réarrangement d'Hofmann à l'aide de PIFA et d'une protection, pour conduire au résidu N^α -CHO- N^β -Boc-Dpr **184** avec un rendement global de 43% à partir de Asn. Cette méthode est assez élégante, mais nous ne l'avons pas développée par manque de reproductibilité des résultats.

-la seconde approche, décrite dans la littérature⁸², nous a permis par une séquence de protection, réarrangement d'Hofmann avec PIDA puis deuxième protection, d'accéder facilement au N^α -Cbz- N^β -Boc-Dpr **59** en 3 étapes avec un rendement de 62% (**Schéma 54**). Nous avons ensuite synthétisé le dipeptide **188** (section II.1.2.d), doublement déprotégé aux extrémités C et N-terminales, qui après formylation dans des conditions douces a conduit au dipeptide **160** avec un rendement de 82% (**Schéma 54**). Nous avons ainsi pu préparer le résidu Dpr formylé sur l'amine- α , acide aminé non protéinogénique présent sous cette forme dans le CtC.

Enfin nous nous sommes intéressé à la synthèse des α -cétocyanophosphoranes : l' α -cétocyanophosphorane dérivé d'arginine **126** et le tripeptide N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr-Pro- N^{δ} - N^{ϵ} -(Cbz)₂-Arg-C(PPh)₃ **159** (**Schéma 54**). En reprenant les conditions de la littérature^{51a,b}, nous avons aisément synthétisé le résidu **126** en **3 étapes** avec un rendement de **50%** à partir du composé commercial *N*-Boc-Arg.HCl **161**.

Par contre l'élaboration du dérivé tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** a nécessité une étude approfondie (section III.2.2.b). En effet, en reproduisant le protocole expérimentale décrit par Wasserman et coll.² pour la préparation d'un dérivé tripeptide α -cétocyanophosphorane très similaire au composé **159** à partir du résidu **126**, nous avons obtenu le tripeptide **159** avec un rendement de 24%. Nous avons émis l'hypothèse d'une dégradation partielle de l' α -cétocyanophosphorane **126** lors de la déprotection en milieu acide (TFA). Pour y remédier, nous avons remplacé le groupe protecteur Boc par un Fmoc pour obtenir le résidu **221** en **5 étapes** avec **19%** de rendement toujours à partir du résidu commercial **161**. Ceci c'est avéré judicieux, puisque nous avons alors pu préparer le tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** en 2 étapes avec un rendement de 75% (**Schéma 54**). Le tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** a ainsi été synthétisé en **7 étapes** avec un rendement global de **14,2%** à partir de **161**.

Notons que tous ces fragments électrophiles peptidiques : les α -aminoaldéhydes **152a,b** et **157**, et les α -cétocyanophosphoranes **126** et **159**, sont assez sensibles et doivent être préparés juste avant leur mise en réaction avec les partenaires nucléophiles.

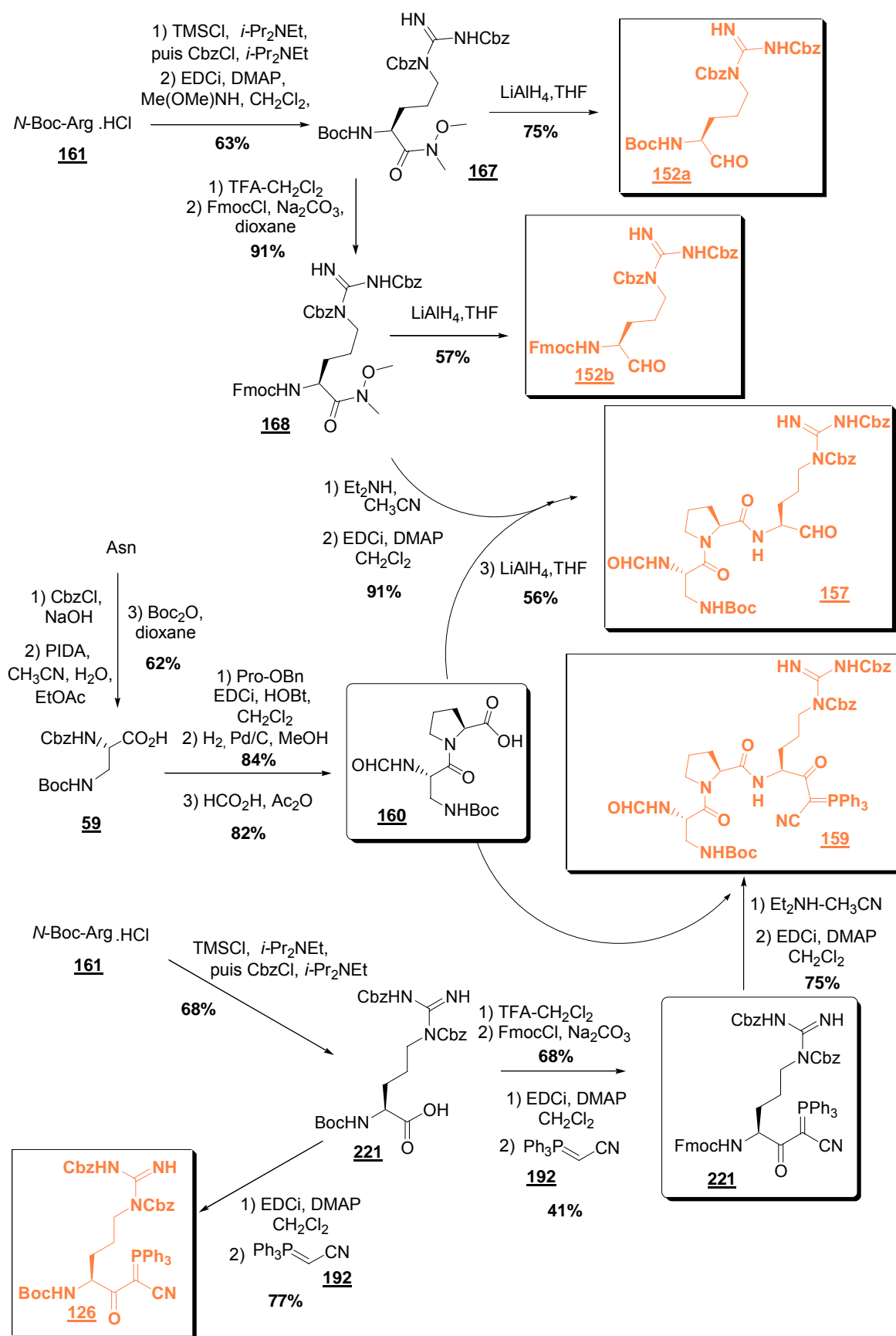
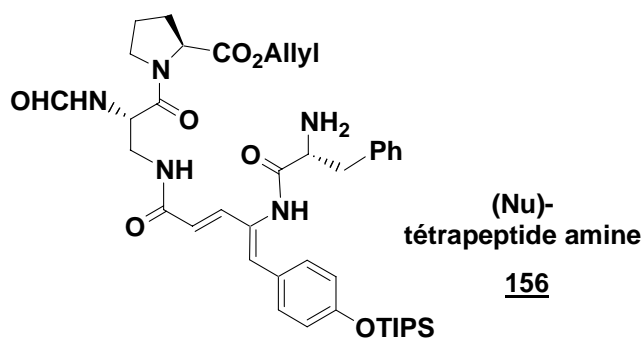
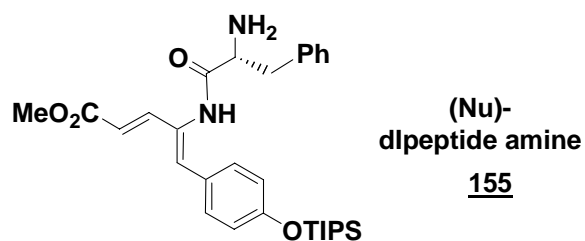
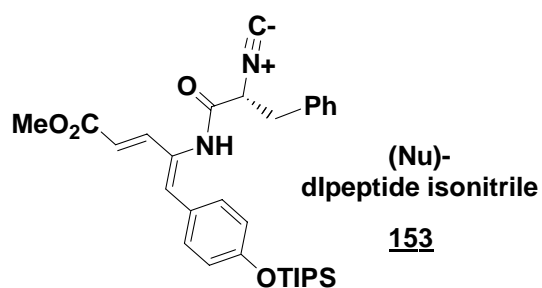


Schéma 54

Chapitre IV.

Synthèse des fragments nucléophiles peptidiques



Dans ce chapitre, notre objectif est de synthétiser les fragments nucléophiles peptidiques définis précédemment au Chapitre II (**Figure 24**) :

- le dipeptide amine **155**,
- le tétrapeptide amine **156**
- le dipeptide isonitrile **153**.

Le schéma rétrosynthétique envisagé pour les nucléophiles est convergent au niveau du composé *D*-Phe-V- Δ Tyr **155**, dipeptide comportant un aminoacide non protéinogénique inédit, le V- Δ Tyr dont nous avons évoqué l'importance dans le chapitre II (**Figure 24**).

En effet, le tétrapeptide **156** pourrait provenir d'un couplage entre un dérivé Dpr-Pro et le dipeptide **155**. Le dipeptide isonitrile **153** pourrait également être obtenu à partir du dipeptide **155** par transformation de l'amine en isonitrile. Le composé *D*-Phe-V- Δ Tyr **155** pourrait être synthétisé par vinylogation du dipeptide *D*-Phe- Δ Tyr **231**. Le composé **231** devrait être préparé à partir de molécules simples (*D*-Phe, Ser, Gly).

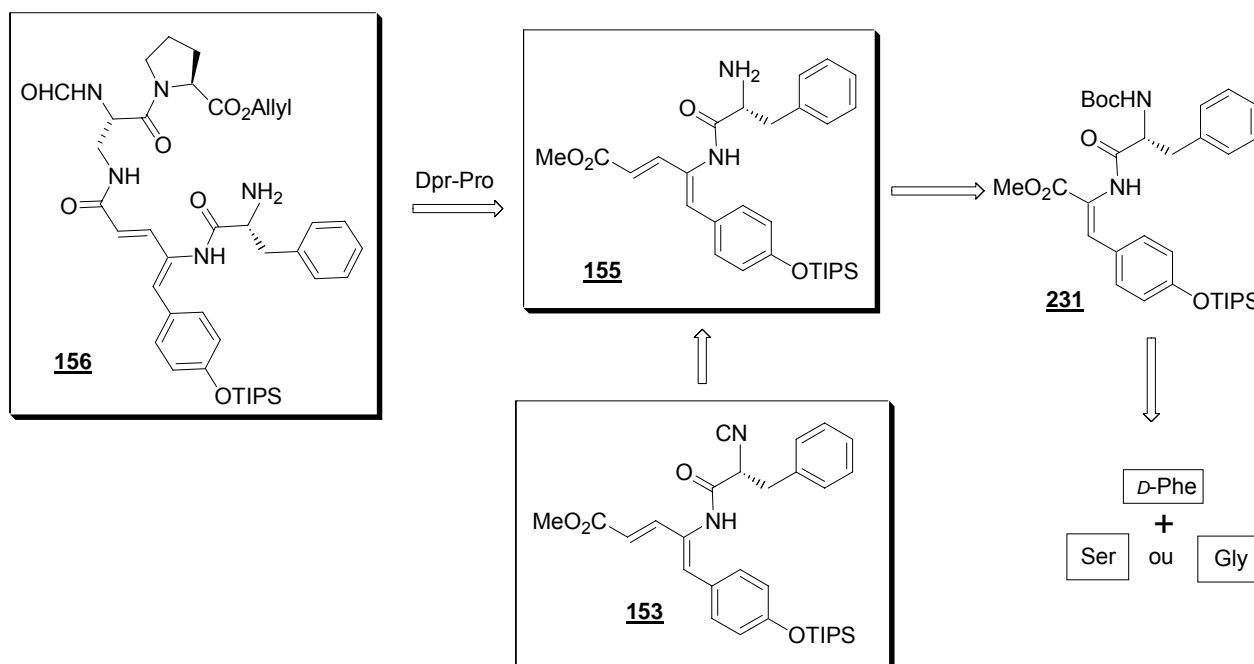


Figure 24. Schéma rétrosynthétique des nucléophiles 153, 155 et 156 provenant de 231.

Dans une première partie, nous allons examiner l'obtention par plusieurs voies de synthèse du dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OMe) **231** qui comporte le motif déshydrotyrosine (Δ Tyr). Une étude approfondie d'accès au composé **231** sera décrite, car l'obtention du motif Δ Tyr propre au CtC est un réel défi et doit se faire avec contrôle de la configuration *Z* requise.

Dans la seconde partie, nous reporterons tout d'abord l'étape cruciale de vinylogation du motif Δ Tyr du dipeptide **231** en V- Δ Tyr, pour laquelle une configuration *E* est nécessaire. Puis nous décrirons l'obtention du nucléophile dipeptide souhaité *D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **155**.

Dans la troisième partie nous nous intéresserons à la préparation du nucléophile tétrapeptide **156**. Cela nous conduira à étudier la déprotection C-terminale du motif V- Δ Tyr et à découvrir la réactivité de ce résidu V- Δ Tyr lors du couplage avec le dipeptide Dpr-Pro.

La quatrième partie sera consacrée à la préparation du dipeptide isonitrile **153** à partir du dipeptide **155**.

Enfin, la dernière partie sera un bilan de l'obtention de tous les fragments nucléophiles.

IV.1. Synthèse du résidu Δ Tyr

Dans cette première partie nous allons nous intéresser à la synthèse du dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **231** (**Figure 25**). L'élaboration du motif Δ Tyr a été envisagée selon deux stratégies différentes :

- la première par des couplages palladocatalysés de Heck ou de Suzuki mettant en jeu des réactions entre les déshydropeptides **234** et **235**, et le *p*-iodo-triisopropylsilylphénol **232** et l'acide boronique **233** respectivement (**Figure 25**).

- la seconde par une réaction de Wadsworth-Emmons impliquant le phosphorylglycine dipeptide **236** et le *p*-silyloxybenzaldéhyde **237** (**Figure 25**).

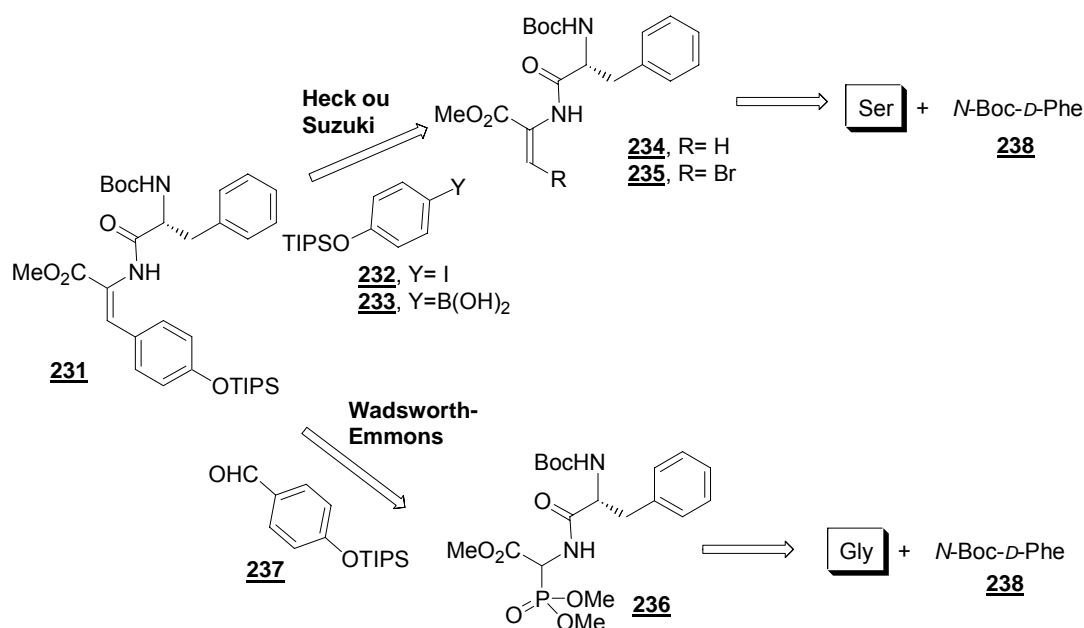


Figure 25. Schéma rétrosynthétique des deux voies d'accès au dipeptide 231d

IV.1.1. Création du motif Δ Tyr par voies palladocatalysées.

Il existe dans la littérature plusieurs méthodes de synthèse du motif déshydroaminoacide, mais peu de travaux ont fait référence à l'utilisation de réactions de couplages palladocatalysés de Heck et de Suzuki (**Figure 26**)¹⁰². Il nous a semblé intéressant d'étudier la formation du motif Δ Tyr par ce type de couplage.

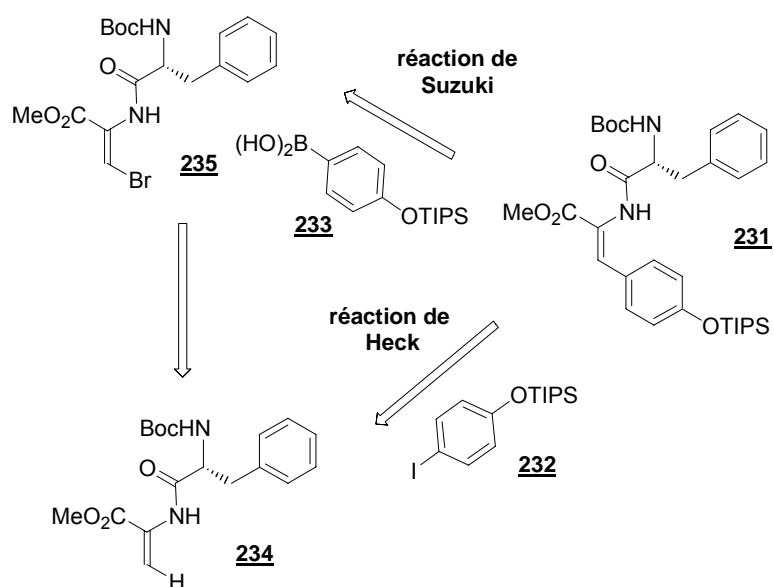


Figure 26. Schéma rétrosynthétique du motif Δ Tyr par les méthodes palladocatalysées

Ces deux voies d'accès au composé **231** utiliseraient le même précurseur dipeptidique contenant le motif déshydroalanine (Δ Ala), le *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Ala-OMe **234**, qui dans le cas de la réaction de Suzuki serait préalablement bromé pour obtenir le dipeptide **235**. Nous allons donc commencer par examiner la synthèse des différents partenaires **232**, **233**, **234** et **235** pour les couplages (**Figure 26**).

IV.1.1.a. Préparation des dérivés déshydroalanine

La première étape de la synthèse de *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Ala-OMe **234** est la protection de la *D*-phénylalanine (*D*-Phe). Pour cela, nous avons traité une solution basique de *D*-Phe avec du dicarbonate de ditertiobutyle (Boc₂O) (**Schéma 55**)¹⁰³. Le *N*-Boc-*D*-Phe **238** est ainsi

¹⁰² T. Abellan, B. Mancheno, C. Najera, J. M. Sansano, *Tetrahedron* **2001**, 57, 6627-6640.

¹⁰³ T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Edn.*, **1999**, Wiley, New-York, p 518-525.

obtenu sous forme d'un solide amorphe avec un rendement de 96%. Il a ensuite été couplé du côté *C*-terminal avec l'amine préalablement libérée de l'ester méthylique de la sérine racémique commerciale (*D/L*-Ser-OMe) à l'aide du chloroformiate d'isobutyle (IBCF, **29**) en présence de triéthylamine pour former le dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-*DL*-Ser-OMe **239** avec un rendement de 87% (**Schéma 55**)^{104,105}. Le produit **239** obtenu, présente les mêmes caractéristiques spectrales que la littérature¹⁰¹.

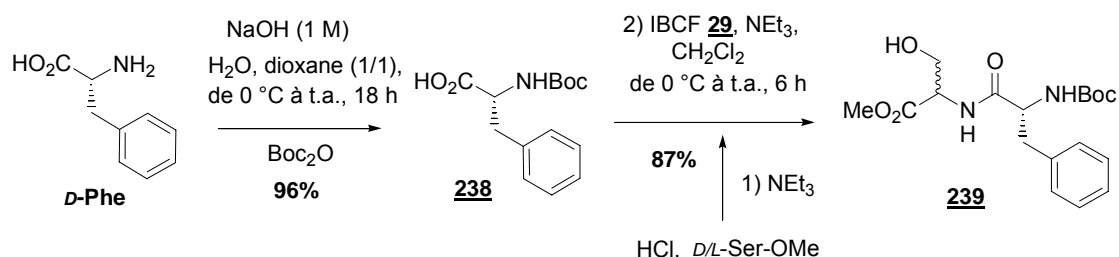


Schéma 55

L'accès au composé *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Ala-OMe **234** a été envisagé par déshydratation du dipeptide **239** (**Schéma 56**). Pour réaliser cette déshydratation, nous avons privilégié des conditions douces adaptées aux différentes fonctions du dipeptide **239**. En effet des conditions acides ou basiques risquent de provoquer les coupures respectives du tertibutylcarbamate ou de l'ester de méthyle. Nous avons donc utilisé comme agent de déshydratation l'EDCi **11**, qui agit dans des conditions neutres en présence de chlorure de cuivre (I) comme acide de Lewis^{106,107}. Cette réaction s'effectue à température ambiante, à l'abri de la lumière pour ne pas altérer la réactivité du CuCl, et délivre le dérivé déshydroalanine **234** avec un rendement de 80% après recristallisation. Nous avons constaté que l'utilisation de CuCl fraîchement purifié était nécessaire pour obtenir de meilleurs résultats de déshydratation.

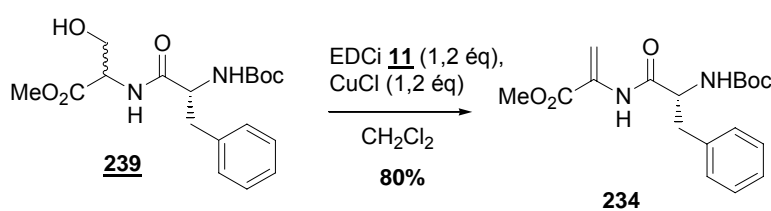


Schéma 56

Nous avons ensuite obtenu le (*Z*)-bromoénamide **235** par une méthode mettant en jeu le *N*-bromosuccinimide (NBS) décrite par Miossec¹⁰⁸. Cette méthode consiste d'abord en une bromation radicalaire du carbone- β accompagnée d'une migration de la double liaison (*via* un

¹⁰⁴ A. I. Meyers, F. X. Tavares, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8207-8215.

¹⁰⁵ M. J. Dunn, R. F. W. Jackson, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 13905-13914.

¹⁰⁶ Y. F. Zhu, T. Yamazaki, J. W. Tsang, S. Lok, M. Goodman, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1074-1081.

¹⁰⁷ M. J. Miller, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 3131-3132.

¹⁰⁸ B. Miossec, R. Danion-Bougot, D. Danion, *Synthesis* **1994**, 1171-1174.

intermédiaire hétéro- π -allylique) pour donner l' α -bromo-imine intermédiaire **240** (**Schéma 57**)¹⁰⁹.

Ensuite, l'isomérisation de la double liaison est réalisée à l'aide d'une base afin d'obtenir le bromoénamide **235** avec une configuration spécifique *Z*. Deux différentes bases (2 éq) ont été essayées dans les mêmes conditions réactionnelles pour réaliser l'isomérisation du composé **240** : le diazabicylundécène (DABCO) qui a permis l'obtention du bromoénamide (*Z*)-**235** avec un rendement de 30% et la triéthylamine qui conduit au produit (*Z*)-**235** avec la même stéréosélectivité, mais avec un rendement bien supérieur de 84% (**Schéma 57**).

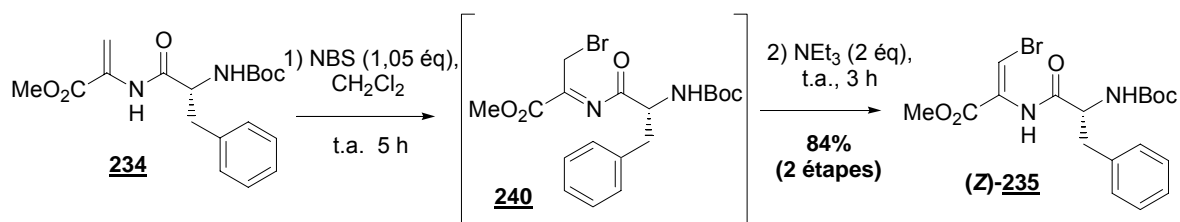


Schéma 57

Par cette séquence réactionnelle nous avons obtenu le *N*-Boc-D-Phe- Δ Ala-OMe **234** et son dérivé bromé, le (*Z*)-bromoénamide **235**, avec des rendements respectifs de 67% en trois étapes et de 56% en quatre étapes. Les étapes suivantes mettant en jeu des systèmes catalytiques à base de complexes de palladium qui sont potentiellement sensibles aux impuretés, nous avons systématiquement recristallisé les échantillons du composé **234** (EtOH/H₂O) et ceux du dipeptide **235** dans l'éther, avant de les conserver sous atmosphère inerte à -10 °C.

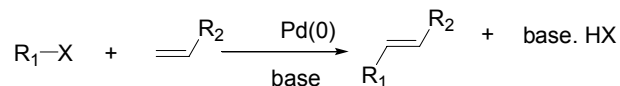
Nous allons maintenant nous intéresser à la synthèse du motif Δ Tyr *via* le motif Δ Ala des composés **170a** et **170b**. Deux possibilités de couplages palladocatalysés se présentent : les couplages au palladium de Heck et de Suzuki.

IV.1.1.b. Couplage de Heck

La réaction de Heck est une réaction de couplage d'un halogénure ou d'un triflate d'aryle ou d'alcényle, avec un alcène en présence de quantités catalytiques de complexe de

¹⁰⁹ R. S. Coleman, A. J. Carpenter, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 4452-4461.

palladium (parfois autres métaux) (**Figure 27**)^{110,111,112}. Ainsi, une liaison C-C est créée entre deux carbones d'hybridation sp^2 , sous contrôle thermodynamique. Ce contrôle thermodynamique confère une configuration préférentielle des produits éthyléniques substitués obtenus (*trans* pour l'illustration sur la **Figure 27**)



R_1 = aryle ou alcényle

X = I, Br, OTf

R_2 = alkyle ou aryle

Figure 27. Couplage palladocatalysé de Heck

Beaucoup de mécanismes relativement complexes ont été proposés par différents auteurs, notamment par Amatore et Jutand^{113a,b}. Cependant un mécanisme simplifié désormais admis est présenté dans le cycle catalytique suivant (**Figure 28**). En effet la réaction est amorcée par une addition oxydante de l'halogénure sur une espèce au Pd(0), préalablement formée *in situ* à partir d'un réactif Pd(II) et de trois équivalents de ligand (L= phosphine, souvant) (**Figure 28**). L'intermédiaire aryl- ou alcényl-palladié $\text{Pd(L)}_2\text{RX}$ forme ensuite un complexe avec l'alcène et après insertion régiosélective de celui-ci, une rotation autour de la nouvelle liaison C-C permet une élimination *syn*. Ainsi le complexe σ -palladié se décompose conduisant à un nouvel alcène. Enfin une étape d'élimination réductrice permet la régénération de l'espèce catalytique de Pd(0).

¹¹⁰ Revue : I. P. Beletskaya, A. V. Cheprakov, *Chem. Rev.* **2000**, 100, 3009-3066.

¹¹¹ D. J. Aitken, S. Faure in *Comprehensive Organic Functional Group Transformations II*, A. R. Katritzky, R. J. K. Taylor, Eds ; Elsevier, Amsterdam, **2005**, Vol. 1. Chapter 11, p 463-531.

¹¹² Revue: G. T. Crisp, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, 27, 427-436.

¹¹³ a) C. Amatore, A. Jutand, A. Thuilliez, *Organometallics* **2001**, 20, 3241-3249; b) Revue: Amatore, A. Jutand, *Acc. Chem. Res.* **2000**, 33, 314-321.

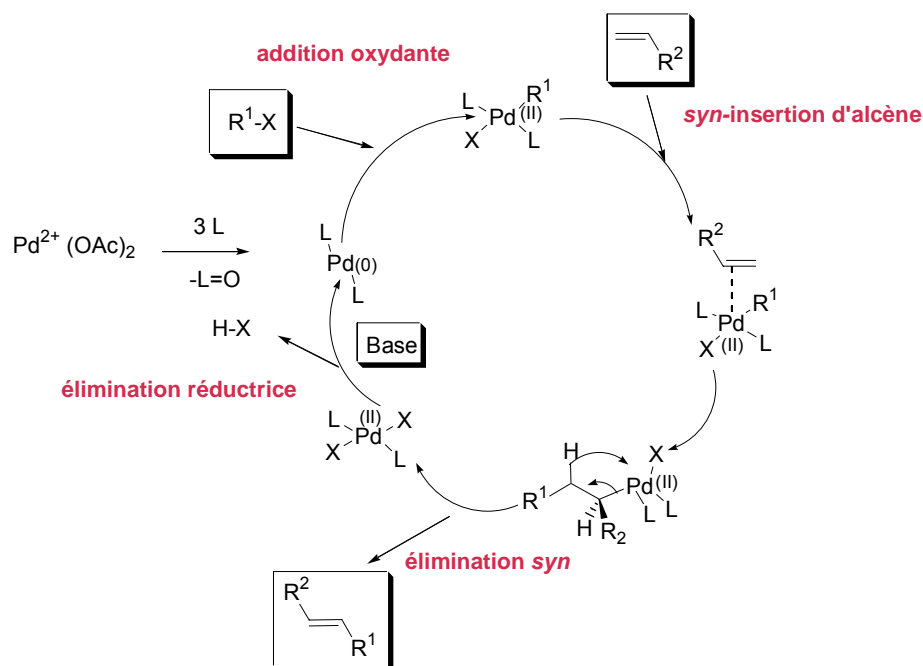


Figure 28. Cycle catalytique du couplage palladocatalysé de Heck

Pour synthétiser la molécule cible *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **231** via le couplage de Heck avec l'alcène **234**, nous avons besoin de synthétiser le partenaire *p*-iodophénol protégé **232**. La méthode développée par Corey¹¹⁴, qui consiste en une activation de l'électrophile par l'imidazole a été appliquée pour obtenir l'éther silylé de triisopropyle (TIPS) **232** avec un bon rendement de 97% (**Schéma 58**).

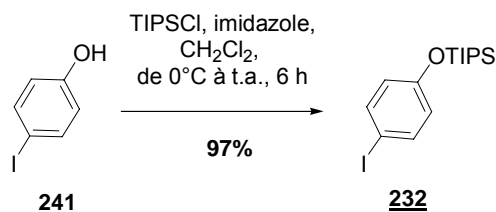


Schéma 58

Nous avons mené une série de réactions de couplage de type Heck, afin de trouver les meilleures combinaisons de systèmes catalytiques (**Schéma 59, Tableau 7**). Nous avons débuté notre étude avec l'acétate de palladium(II) comme catalyseur, qui est un réactif communément utilisé dans les couplages palladocatalysés^{115,116}. Nous avons testé les différentes conditions de couplage avec le *p*-iodophénol **241**, avant de réaliser la réaction avec le *p*-iodo-triisopropylsilylphénol **232** (**Schéma 59, Tableau 7**).

¹¹⁴ E. J. Corey, A. Venkateswarlu, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6190-6191.

¹¹⁵ A-S. Carlström, T. Frejd, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1289-1293.

¹¹⁶ M. K. Gurjar, A. Talukdar, *Synthesis* **2002**, 315-316.

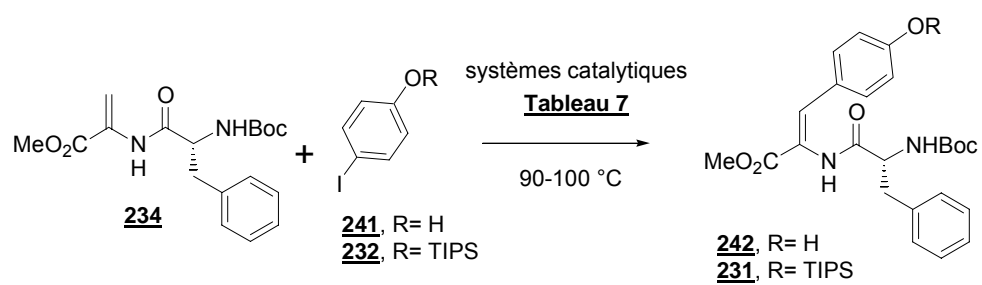


Schéma 59

| Entrée | <i>p</i> -iodophénol (R) | Système catalytique | Catalyseur (quantité) | Temps | Produit de départ 234 (récupéré) | Rdt en produit 231 (protégé) | Rdt en produit 242 (hydroxylé) |
|----------|--------------------------|---|---|-------|---|-------------------------------------|---------------------------------------|
| 1 | 241 (H) | N(<i>n</i> -Bu) ₄ Br / NaHCO ₃ / DMF | Pd(OAc) ₂ , (3 %) | 18 h | 6 % | - | 21 % |
| 2 | 232 (TIPS) | N(<i>n</i> -Bu) ₄ Br / NaHCO ₃ / DMF | Pd(OAc) ₂ , (3 %) | 24 h | 42 % | 0 % | 34 % |
| 3 | 241 (H) | NEt ₃ / CH ₃ CN | Pd(OAc) ₂ , (10 %) PPh ₃ , (21 %) | 60 h | 12 % | - | 21 % |
| 4 | 232 (TIPS) | NEt ₃ / CH ₃ CN | Pd(OAc) ₂ , (10 %) PPh ₃ , (21 %) | 48 h | 31 % | 22 % | 0 % |
| 5 | 241 (H) | NEt ₃ / CH ₃ CN | Pd(OAc) ₂ , (7 %) P(<i>o</i> -tolyl) ₃ (14 %) | 30 h | 31 % | - | 49 % |
| 6 | 232 (TIPS) | NEt ₃ / CH ₃ CN | Pd(OAc) ₂ , (7 %) P(<i>o</i> -tolyl) ₃ (14 %) | 96 h | 31 % | 30 % | 0 % |

Tableau 7. Réactions de Heck de l'alcène 234 avec les *p*-iodophénols 232 et 241

Dans tous les cas, nous avons obtenu un produit de couplage **231** ou **242** (rendement de 21% à 49%) accompagné de l'alcène de départ **234** n'ayant pas réagi (de 6% à 42%).

Nous avons observé que le système catalytique $N(n\text{-Bu})_4\text{Br}/\text{NaHCO}_3/\text{DMF}$ donne :

- un rendement très faible de 21% pour le couplage du dipeptide **234** avec le *p*-iodophénol **241** (**Tableau 7**, entrée 1)

- un produit de couplage hydroxylé, ayant perdu le groupement protecteur silylé pour la réaction entre **234** et **232** (**Tableau 7**, entrée 2), avec un rendement de 34%.

En effet, la littérature a signalé la déprotection d'éthers silylés par certains complexes de palladium (II)¹¹⁷, ce qui correspond bien à nos résultats expérimentaux.

En nous inspirant de travaux similaires sur des réactions de Heck avec des dérivés de Δaa^{100} , nous avons décidé d'étudier la catalyse par l'acétate de palladium en présence de deux équivalents de triphénylphosphine comme ligand et de triéthylamine. Le couplage avec le *p*-iodophénol **241** n'a pas été amélioré par ce système catalytique (**Tableau 7**, entrée 3), par contre nous avons obtenu un produit silylé **231**, pour le couplage entre **234** et **232** (**Tableau 7**, entrée 4) avec un rendement faible de 22%.

De nombreuses publications d'Herrmann montrent l'intérêt du catalyseur du même nom **243**, qui a une structure dimérique caractérisée par une liaison Pd-C dans un palladacycle, pour des couplages palladocatalysés (**Figure 29**)^{118a-d}. Beller a également étudié l'utilité du palladacycle **243** pour des couplages mettant en jeu des alcènes disubstitués, ce qui est assez rare dans la littérature¹¹⁹. De plus, dans une revue sur les palladacycles, Herrmann a proposé un mécanisme de type rédox pour l'utilisation du palladacycle **243**, lequel en présence de base formerait un complexe de palladium(0) (**Figure 29**)^{101d}.

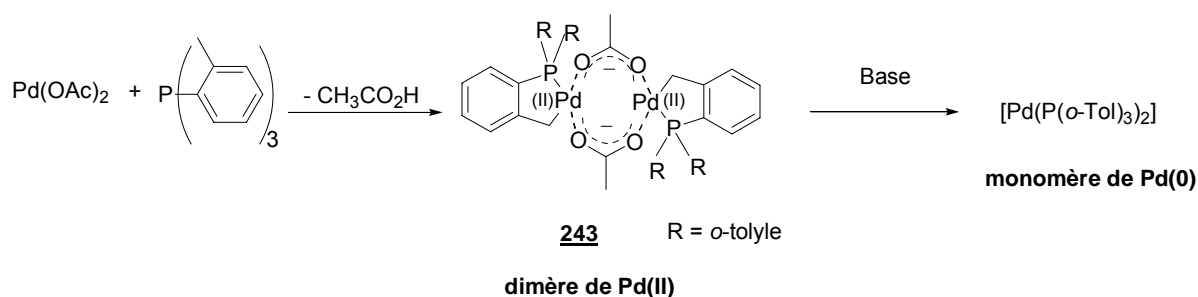


Figure 29. Catalyseur de type palladacycle de Herrmann, 243

¹¹⁷ N. S. Wilson, B. A. Keay, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 153-156.

¹¹⁸ a) W. A. Herrmann, C. Brossmer, C. P. Reisinger, T. H. Riermeier, K. Öfele, M. Beller, *Chem. Eur. J.* **1997**, 3, 1357-1364; b) W. A. Herrmann, C. Brossmer, K. Öfele, C.-P. Reisinger, T. Priermeier, M. Beller, H. Fischer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, 34, 1844-1849; c) V. P. W. Böhm, W. A. Herrmann, *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 4191-4197; d) Revue : W. A. Herrmann, V. P. W. Böhm, C.-P. Reisinger, *J. Organomet. Chem.* **1999**, 576, 23-41.

¹¹⁹ M. Beller, T. H. Riermeier, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 6535-6538.

Or le couplage de Heck que nous souhaitons effectuer entre l'alcène **234** et le *p*-iodo-triisopropylsilylphénol **232** nécessite l'utilisation d'un complexe de palladium(0) pour ne pas cliver le groupement TIPS. L'essai de couplage entre les dérivés **234** et **232** en présence du catalyseur d'Herrmann a été le plus performant, donnant le produit de couplage attendu **231** avec un rendement de 30% (**Tableau 7, entrée 6**). Ce résultat a été confirmé par le couplage avec le *p*-iodophénol **241** pour donner le produit **242** avec 49% de rendement (**Tableau 7, entrée 5**).

Pour conclure sur cette brève étude de la réaction de Heck, nous dirons que la plus efficace synthèse du *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **231** a été réalisée avec le catalyseur de Herrmann **243** un rendement de 30%. Le même système catalytique a permis d'isoler le dipeptide hydroxylé *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr-OMe **231** avec un rendement de 49%, produit qui pourrait être protégé à l'aide de chlorure de triisopropyle pour donner **231**. Les rendements en produits couplés **231** et **242** n'ont pas dépassés les 49%, ce qui n'est en aucun cas satisfaisant. Si le couplage de Heck est réputé se faire avec de très bons rendements, c'est le plus souvent grâce à l'utilisation d'un large excès du réactif alcène (typiquement 5 équivalents) par rapport aux dérivés halogénoaryles. Or dans notre cas, l'alcène **234** est le réactif « précieux » et ne peut être utilisé en excès. De plus, une des raisons majeures de l'échec du couplage de Heck pour notre cas est sans doute aux densités électroniques des substrats **234** et **232** :

- premièrement l'alcène **234** possède une double liaison pauvre en électrons, ce qui est défavorable pour s'insérer sur le palladium (étape de *syn*-insertion, **Figure 28**)

- deuxièmement la liaison C-I du partenaire aryle est plutôt riche en électrons et donc l'étape d'addition oxydante sur le métal n'est pas non plus très favorable.

Toutes ces raisons nous ont incités à ne pas retenir la réaction de Heck pour la synthèse du dipeptide **231** et à nous tourner vers la réaction de Suzuki pour voir si nous pourrions avoir plus de succès. Avant cela nous devons regarder la stéréochimie de l'oléfine des produits obtenus par le couplage de Heck et vérifier la stéréosélectivité de la réaction.

IV.1.1.c. Attribution de la configuration de l'oléfine du motif Δ Tyr

Il était important à ce stade de s'assurer de la configuration de la double liaison des deux produits **231** et **242** préparés par les couplages de Heck présentés ci-dessus.

En effet, pour le CtC, la configuration de l'insaturation du motif Δ Tyr a été attribuée par Fusetani comme étant Z^{34} . L'attribution de la configuration *Z* du produit **231** (prévue par les arguments thermodynamiques) a été confirmée par l'observation du signal singulet en

RMN ^1H aux alentours de 7,30 ppm, correspondant à la description faite dans la littérature pour le déplacement chimique d'un proton éthylénique d'une double liaison de configuration *Z* (**Figure 30**)^{120,121}.

Par ailleurs, nous disposons des deux diastéréoisomères *Z* et *E* du composé **231**, grâce à la seconde voie de synthèse par la méthode de Wadsworth-Emmons, que nous présenterons dans la section suivante (IV.1.2). Ceci nous a permis d'observer un déblindage du singulet correspondant au proton éthylénique pour le diastéréoisomère *E* du composé **231**, avec un déplacement chimique aux alentours de 7,50 ppm en RMN ^1H (**Figure 30**)^{120,121}.

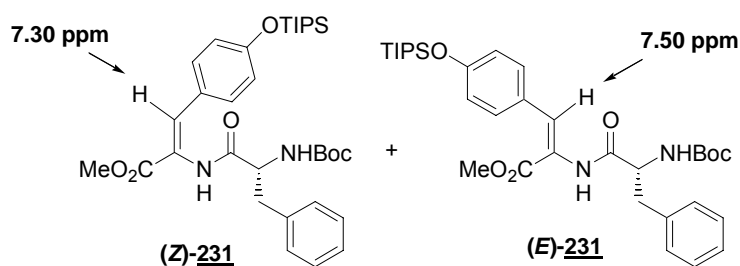
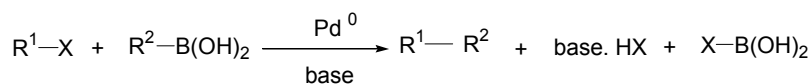


Figure 30. Comparaison RMN ^1H du proton éthylénique du résidu ΔTyr

IV.1.1.d. Couplage de Suzuki

La réaction palladocatalysée mise au point par Suzuki permet le couplage entre un halogénure ou triflate d'aryle ou d'alcényle et un acide alkylboronique ou arylboronique (**Figure 31**)¹²². Le mécanisme catalytique de la réaction est similaire à celui de Heck, avec le remplacement de l'alcène par un acide boronique. La littérature abondante traitant cette réaction fait état de rendements élevés en produits couplés quand les deux partenaires sont utilisés en quantités équimolaires^{123,124} et montre combien cette réaction de couplage est utile en synthèse totale¹²⁵.



R^1 = aryle ou alcényle

X = I, Br, OTf

R^2 = alkyle ou aryle

Figure 31. Le couplage de Suzuki

¹²⁰ A. Srinivasan, K. D. Richards, R. K. Olsen, *Tetrahedron Lett.* **1976**, 17, 891-894.

¹²¹ A.-S. Carlström, T. Frejd, *Synthesis* **1989**, 414-418.

¹²² Revue : N. Miyaura, A. Suzuki, *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2457-2483.

¹²³ R. Wang, B. Twamley, J. M. Shreeve, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 426-429.

¹²⁴ Y.-C. Lai, H.-Y. Chen, W.-C. Hung, C.-C. Lin, F.-E. Hong, *Tetrahedron* **2005**, 61, 9484-9489.

¹²⁵ Revue : K. C. Nicolaou, P. G. Bulger, D. Sarlah, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 4442-4489.

La réaction est amorcée par une addition oxydante de l'halogénure ou du triflate (R^1-X) sur une espèce au Pd(0), pouvant être préalablement formée *in situ* à partir d'un réactif Pd(II) (**Figure 32**). Un équivalent de base vient s'insérer sur le complexe de palladium(II) libérant ainsi le sel NaX. Ensuite se produit une étape de transmétallation où le complexe de palladium(II) vient s'insérer par transmétallation dans la liaison R-B. Un équivalent de base va permettre l'élimination du sel de bore $B(OH)_4^- Na^+$ pour laisser l'intermédiaire bis(aryl- ou alcényl)-palladié $Pd(L)_2 R^1 R^2$, pour enfin libérer par élimination réductrice un composé R^1-R^2 ayant une nouvelle liaison C-C permettre la régénération de l'espèce catalytique de Pd(0).

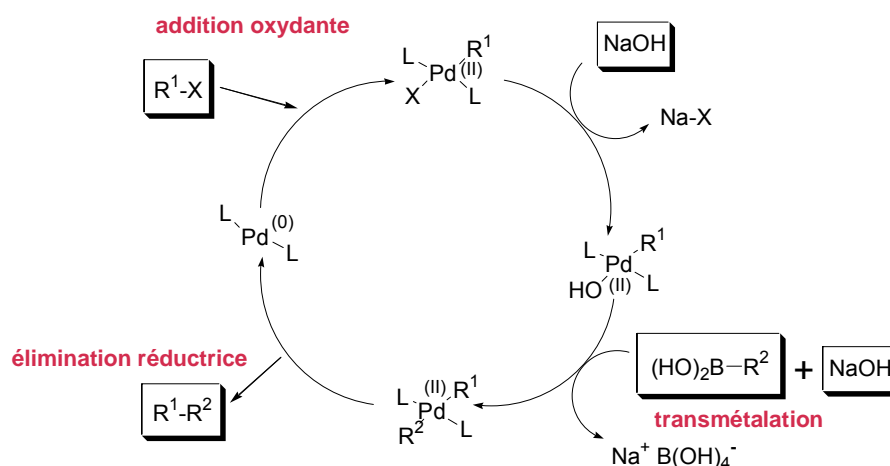


Figure 32. Cycle catalytique du couplage palladocatalysé de Suzuki

Contrairement à la réaction de Heck, le réactif oléfinique dans la réaction de Suzuki est utilisé sous forme d'halogénure ou de triflate. Nous avons donc utilisé pour notre travail le (Z)-bromoénamide **235**. Il convient d'identifier le partenaire acide boronique que l'on souhaite coupler.

Un premier couplage de Suzuki a été réalisé avec un acide arylboronique modèle : l'acide phénylboronique commercial, afin de tester la réaction de couplage et de confirmer la régiosélectivité de la réaction de Suzuki. En effet, la littérature concernant les couplages de Suzuki sur des β -(bromo)- Δ aa Z ou E prévoit la conservation de la stéréochimie de l'insaturation pour le produit de couplage^{126a,b}. Ainsi, en suivant la méthodologie développée par Burk pour le couplage de bromoénamides avec des acides arylboroniques, nous avons traité le (Z)-bromoénamide **235** avec $PhB(OH)_2$ (1 éq) en présence de l'acétate de palladium comme catalyseur (5% en mol) et de Na_2CO_3 comme base dans l'éthanol à 50 °C pendant 72 h

¹²⁶ a) M. J. Burk, J. G. Allen, W. F. Kiesman, K. M. Stoffan *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 1309-1312; b) M. J. Burk, J. G. Allen, W. F. Kiesman, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 657-663.

(Schéma 60)^{127a}. Le produit de couplage **244** de configuration *Z*, a été obtenu avec un rendement de 79%. Il faut noter que le produit **244** est un ester éthylique, résultant d'une transestérification dans le solvant éthanol.

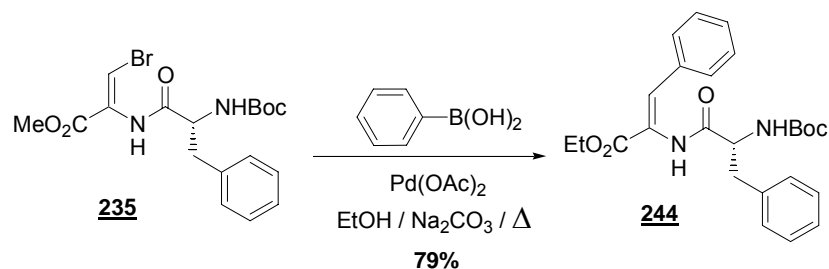


Schéma 60

Ayant vérifié notre hypothèse, selon laquelle le couplage de Suzuki serait plus favorable pour la création de la liaison C-C et que le produit de cette réaction conservait la stéréochimie (*Z*), nous sommes passés aux essais plus poussés mettant en jeu un acide arylboronique *p*-oxygéné. Notons que la littérature pour des couplages de Suzuki utilisant des acides arylboroniques *p*-oxygénés est très rare¹²⁷.

L'acide arylboronique **233** a été préalablement préparé à partir de **232** par lithiation et attaque nucléophile sur le tri-*i*-propylboronate, suivi d'une saponification en milieu acide avec un rendement de 61% (Schéma 61)¹²⁸.

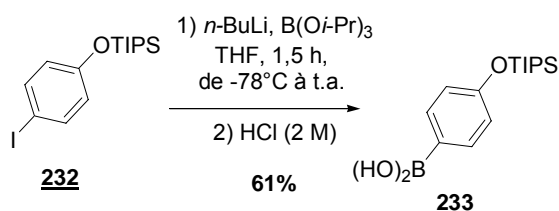


Schéma 61

Le couplage de Suzuki entre le (*Z*)-bromoénamide **235** et l'acide arylboronique **233** a été réalisé dans différentes conditions opératoires, repertoriées dans le **Tableau 8** (Schéma 62) :

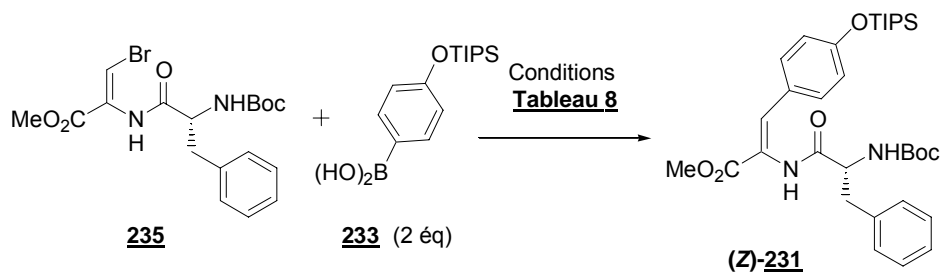


Schéma 62

¹²⁷ C. B. Koning, J. P. Michael, A. L. Rousseau, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 787-797.

¹²⁸ J. Kristensen, M. Lysen, p. Vedso, M. Begtrup, *Org. Lett.*, **2001**, 3, 1435-1437.

Tableau 8. Différents systèmes catalytiques pour le couplage de Suzuki entre 235 et 233

| Entrée | Solvants | Catalyseurs | Bases | Additifs | Produits |
|--------|----------|---|--------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|
| 1 | THF | Pd(PPh ₃) ₄ (3%) | KF | aucun | produit unique non identifié* |
| 2 | toluène | Pd(PPh ₃) ₄ (3%) | K ₂ CO ₃ | CaF ₂ | produit unique non identifié* |
| 3 | toluène | Pd(PPh ₃) ₄ (3%) | K ₂ CO ₃ | aucun | (Z)- 231 (16%) |
| 4 | toluène | Pd(PPh ₃) ₄ (3%) | K ₂ CO ₃ | EtOH (20%) | (Z)- 231 (57%)** |
| 5 | toluène | Pd(PPh ₃) ₄ (3%) | K ₂ CO ₃ | EtOH (20%), H ₂ O (10%) | (Z)- 231 (76%) |

* produit silylé différent de **231**. ** transestérification partielle conduisant à l'ester éthylique avec un rendement de 17% supplémentaire.

Ainsi, reprenant des conditions de la littérature¹²⁰, avec un apport d'eau (10%) pour éviter la transestérification (**Tableau 8**, entrées 4 et 5), nous avons traité le (Z)-bromoénamide **235** avec l'acide boronique **233** (2 éq) en présence de palladium(0) comme catalyseur (3% en mol) et de K₂CO₃ comme base dans l'éthanol à 95 °C pendant 1 h, pour obtenir le dipeptide **231** avec une configuration unique Z de l'insaturation et un bon rendement de 76% (**Schéma 62**).

IV.1.1.e. Bilan des méthodes palladocatalysées pour la synthèse du dipeptide N-Boc-D-Phe-ΔTyr(OTIPS)-OMe

Les couplages de Heck et Suzuki se sont avérés plus ou moins appropriés pour accéder à des structures peptidiques contenant un déshydroaminoacide. Notons que ces deux méthodes ont permis l'obtention stéréosélective du motif ΔTyr de configuration Z.

Notre étude a montré que la réaction de Suzuki était beaucoup plus efficace pour l'obtention du dérivé N-Boc-D-Phe-ΔTyr(OTIPS)-OMe **231**. Ceci peut s'expliquer par l'influence des effets stéréoélectroniques de chacun des partenaires mis en jeu pour les couplages de Heck et de Suzuki (**Figure 33**). En effet la première étape du cycle catalytique est une insertion du Pd sur la liaison C-X, addition oxydante qui est favorisée par une densité électronique faible de la liaison C-X (**Figure 33**). Hors pour la réaction de Heck l'aryl éther porte une liaison C-X riche en électrons, alors que pour la réaction de Suzuki cette liaison C-X est portée par un ester α,β insaturé **234**, donc la densité électronique est faible ce qui favorise considérablement l'insertion du Pd.

La deuxième étape clé du cycle catalytique est la *syn*-insertion :

Pour la réaction de Heck, le dipeptide **234** devant se transmétaller est pauvre en électrons (ester α,β insaturé), ce qui est à nouveau défavorable. Par contre pour la réaction de Suzuki, l'acide arylboronique **233**, riche en électron facilite la transmétallation sur le complexe de Pd (**Figure33**).

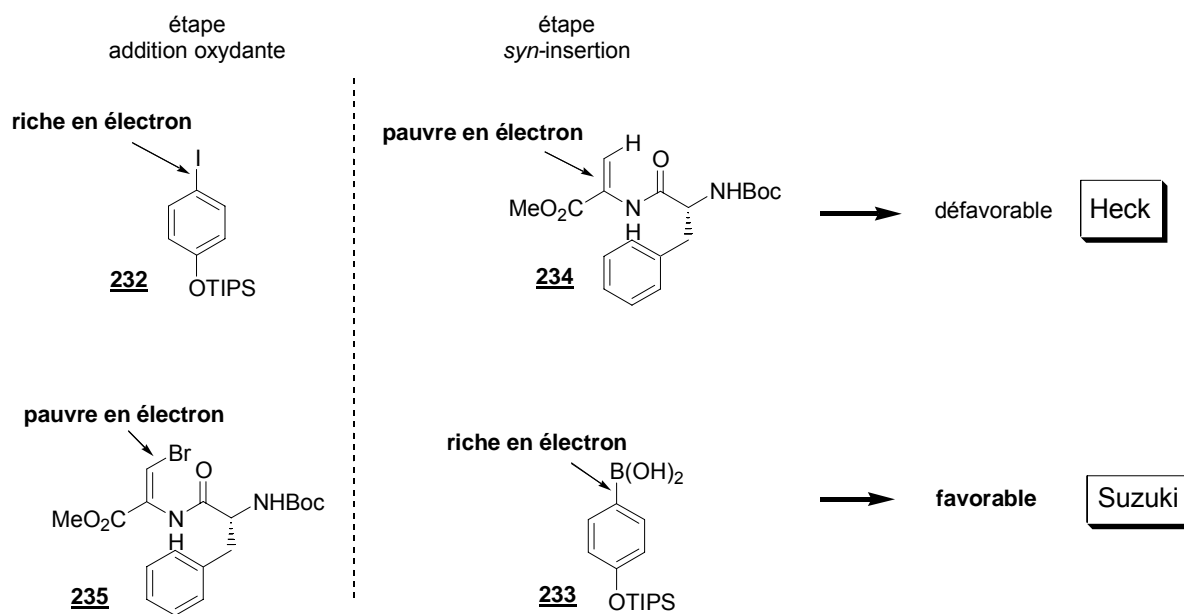


Figure 33. Comparaison des couplages de Heck et Suzuki

Il est donc logique d'obtenir expérimentalement des rendements en produit désiré *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe, **231**, bien plus élevés pour la réaction de Suzuki (**76%**), que pour celle de Heck (**30%**).

IV.1.2. Création du motif Δ Tyr par la réaction de Wadsworth-Emmons

Les voies d'accès au dipeptide **231** par couplage palladocatalysé sont assez élégantes et stéréosélectives pour la création de l'oléfine de configuration *Z*. Pourtant ces méthodes sont assez coûteuses (prix de palladium), ce qui devient rapidement un facteur limitant lorsque le produit doit être synthétisé en quantité importante.

Nous sommes donc revenu sur une méthode simple d'accès aux désydroaminoacides, largement décrite dans la littérature^{129,130,131}, pour préparer le dipeptide **231**, en envisageant une réaction de Wadsworth-Emmons sur le phosphorylglycine dipeptide **236** (**Figure 34**). Comme on peut le voir sur le schéma rétrosynthétique ci-dessous, deux stratégies différentes pourraient être envisagées pour accéder au dipeptide **236** :

-la première utiliserait une méthode innovante de couplage au rhodium entre l'azoture **245**, et un amide primaire, le résidu **246**.

- la seconde méthode permettrait l'obtention du dipeptide **236** à partir de *N*-Boc-*D*-Phe **238** et de la phosphorylglycine **247** provenant de la glycine.

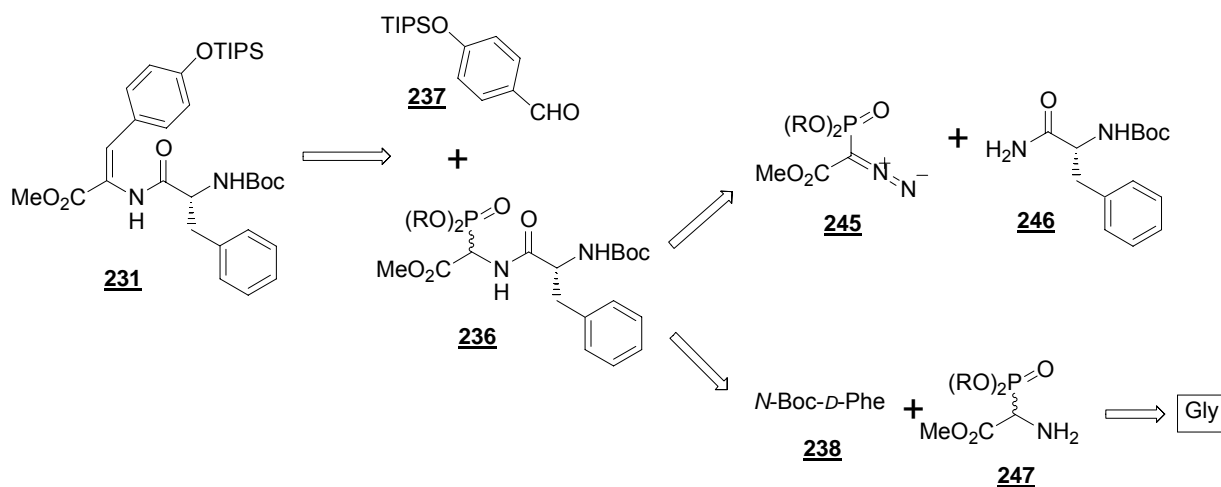


Figure 34. Rétrosynthèse du dipeptide 231 via le phosphorylglycine dipeptide 236

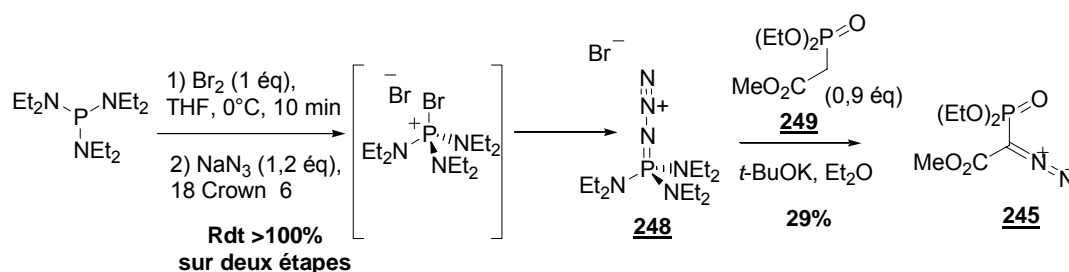
¹²⁹ U. Schmidt, H. Griesser, V. Leitenberger, A. Lieberknecht, R. Mangold, R. Meyer, P. Riedl, *Synthesis* **1992**, 487-490.

¹³⁰ U. Schmidt, A. Lieberknecht, J. Wild, *Synthesis* **1984**, 53-59.

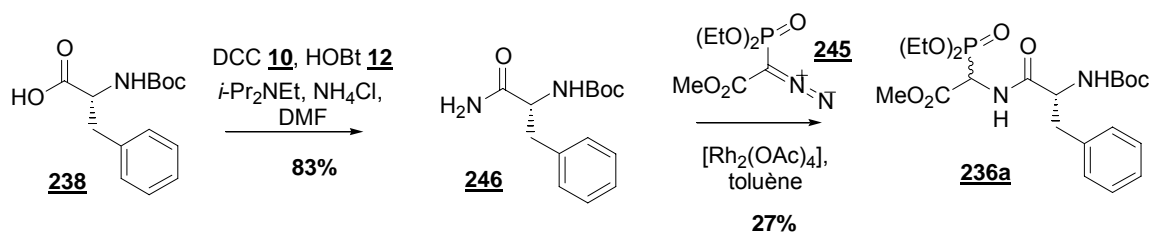
¹³¹ Revue : U. Schmidt, A. Lieberknecht, J. Wild, *Synthesis* **1988**, 159-172.

IV.1.2.a. Accès au phosphorylglycine dipeptide via un diazaphosphonoacétate

La préparation du composé diazaphosphonoacétate **245** a été réalisée suivant une méthode douce décrite dans la littérature, sans donner de réelles satisfactions (**Schéma 63**)¹³². En effet, l'azoture **248** a été obtenu en deux étapes successives de bromation avec le dibrome (2 éq) et de substitution avec de l'azoture de sodium (1,2 éq) avec un rendement supérieur à 100%. L'azoture **248** n'a pas pu être purifié correctement car il est assez sensible et il n'a pas été clairement différencié de l'intermédiaire bromure de phosphonium en RMN ¹H et ¹³C. Le composé **245** a été préparé à partir du dérivé non purifié **248** avec du méthylephosphonoacétate d'éthyle **249** (0,9 éq) en présence de *tert*-butylate de potassium avec un rendement global faible sur trois étapes de 29% (**Schéma 63**).

**Schéma 63**

L'amide primaire **246** a été synthétisé aisément avec un rendement de 83%, à partir de *N*-Boc-*D*-Phe **238** par une méthode classique d'activation à l'aide de DCC **10** et d'HOBT **12**, en présence de chlorure d'ammonium et de DIPEA générant *in situ* de l'ammoniaque (**Schéma 64**)¹³³. Ensuite, le couplage au rhodium avec [Rh₂(OAc)₄], créant une liaison entre l'amide primaire **246** et le carbène **245** par insertion du complexe de ruthénium dans la liaison N-H, a donné accès au phosphonate **236a** avec un rendement faible de 27%¹³⁴.

**Schéma 64**

¹³² M. McGuiness, H. Shechter, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 4987-4990.

¹³³ W. Wang, J. S. McMurray, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 2501-2504.

¹³⁴ R. T. Buck, P. A. Clarke, D. M. Coe, M. J. Drysdale, L. Ferris, D. Haigh, C. J. Moody, N. D. Pearson, E. Swann, *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 2160-2167.

Cette voie d'accès au phosphorylglycine dipeptide **236b** ne s'est pas révélée très efficace avec notamment un rendement peu satisfaisant pour le couplage métallo-catalysé. Nous avons donc préféré nous tourner vers la méthode la plus utilisée de la littérature à partir de l'ester de phosphorylglycine **247**¹²⁹⁻¹³¹.

IV.1.2.b. *Accès au phosphorylglycine dipeptide par couplage peptidique*

Pour préparer le dipeptide désiré *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **231**, il a fallu préalablement synthétiser le phosphorylglycine dipeptide **236** à partir de l'ester de phosphorylglycine **247**.

Le phosphonate **247** est obtenu en quatre étapes (nécessitant peu de purifications) avec un bon rendement global de 50%, selon la méthode développée par Schmidt et coll. (**Schéma 65**)¹³⁰. Tout d'abord l'attaque nucléophile du benzyle carbamate sur l'acide glyoxylique permet d'isoler l' α -hydroxy-*N*-benzyloxycarbonylglycine, **250** qui a été ensuite traitée en milieu méthanolique avec de l'acide sulfurique concentré pour donner la *N*-Cbz-(α -OMe)-Gly-OMe **251**. Ces étapes ont été réalisées suivant la littérature avec des analyses de produits conformes¹³⁵.

Le groupement méthoxy du dérivé de glycine **251** a ensuite été substitué par un phosphonate par une réaction de type Arbuzov modifiée dans le toluène à chaud pour accéder au méthyle- α -phosphoryl-*N*-benzyloxycarbonylglycinate de méthyle *N*-Cbz-(α -PO(OMe)₂)-Gly-OMe, **252** avec un rendement de 74% (**Schéma 65**). L'ester de phosphorylglycine **252** est ensuite déprotégé sélectivement du côté *N*-terminal par hydrogénolyse catalytique pour conduire de façon quantitative à l'amine **247**. Ce composé **247** se dégrade très rapidement ; il fallait donc l'engager dans la réaction de couplage peptidique immédiatement après l'isolement.

¹³⁵ U. Zoller, D. Ben-Ishai, *Tetrahedron* **1975**, 31, 863-866.

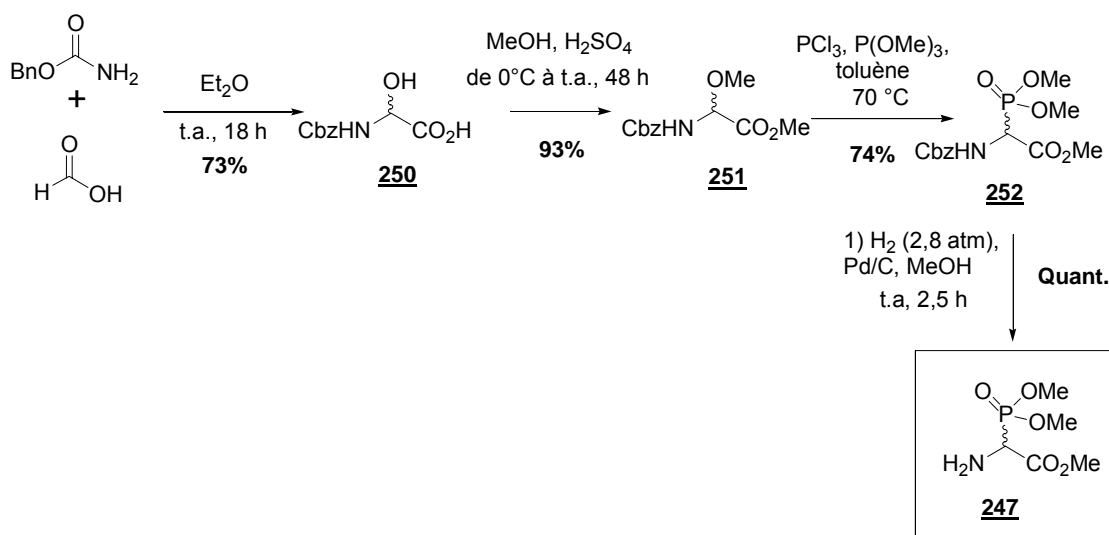


Schéma 65

Le dérivé α -PO(OMe)₂-Gly-OMe **247** a ensuite été couplé à la *N*-Boc-*D*-Phe **238** (obtenu précédemment) avec différents réactifs de couplage pour conduire au phosphorylglycine dipeptide **236b** (Schéma 66). Les résultats de ces couplages sont présentés dans le **Tableau 9**.

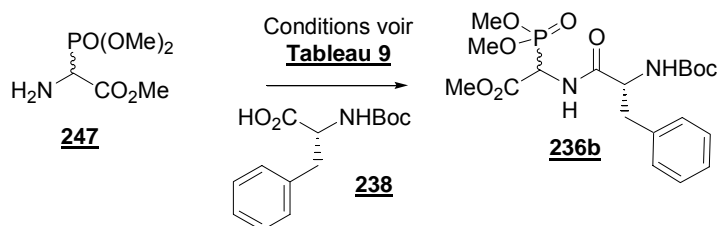


Schéma 66

 Tableau 9. Couplage peptidique pour l'obtention du dipeptide phosphorylglycine **236b**

| Entrée | Systèmes d'activation | Rdt en 236b |
|--------|---|--------------------|
| 1 | IBCF 29 (1,2 éq), NEt ₃ (1,2 éq), CH ₂ Cl ₂ | 38% |
| 2 | DCC 10 (1,1 éq), HOBT 12 (1,1 éq), CH ₂ Cl ₂ | 77% |
| 3 | EDCi 11 (1,5 éq), HOBT 12 (1,4 éq), CH ₂ Cl ₂ | 95% |

Le meilleur résultat pour le couplage peptidique a été obtenu en utilisant EDCi **11** (1,5 éq) en présence d'HOBT **12** (1,4 éq) comme système d'activation avec un rendement de 95% (**Tableau 9**, entrée 3)¹³⁶. Notons aussi que le dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-(α -PO(OMe)₂)-Gly-OMe **236b** synthétisé, serait un bon précurseur pour la synthèse d'une bibliothèque de dipeptides *N*-Boc-*D*-Phe- Δ aa.

¹³⁶ M. G. Stocksdales, S. Ramurthy, M. J. Miller, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 1221-1225.

IV.1.2.c. Réaction de Wadsworth-Emmons

La réaction de Wadsworth-Emmons est très largement utilisée dans la littérature et permet un accès simple à des déshydroaminoacides (Δ aa) de configuration *Z*, à partir de dérivés phosphorylglycine dipeptides^{134,137,138,139}. Pour réaliser la réaction de Wadsworth-Emmons sur le composé **236b**, nous avons utilisé le *p*-hydroxybenzaldéhyde protégé **237**, obtenu après une étape de protection du *p*-hydroxybenzaldéhyde commercial en éther silylé, à l'aide du TIPSCI (**Schéma 67**)¹⁴⁰.

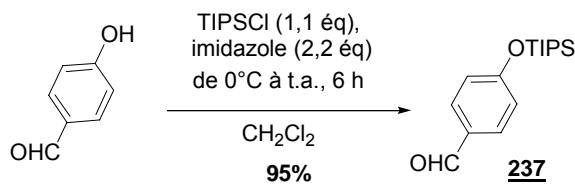


Schéma 67

L'étape de condensation de Wadsworth-Emmons basée sur les travaux de la littérature^{127,137}. La réaction à partir du phosphorylglycine dipeptide **236b** a été réalisée avec différentes bases (*t*-BuOK, NaH et 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène (DBU)) afin d'obtenir le dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **231** (**Schéma 68, Tableau 10**). L'utilisation de *t*-BuOK n'a pas été appropriée pour la synthèse du dipeptide **231** (**Tableau 10, entrée 1**). Par contre la réaction en présence de NaH a conduit au dipeptide **231** avec une sélectivité préférentielle pour le diastéréoisomère *E*, avec un ratio *E/Z* de 15/85 (**Tableau 10, entrée 2**). Les deux diastéréoisomères de 169d ont été séparés par chromatographie sur gel de silice, nous permettant ainsi d'attribuer la configuration de l'oléfine formée lors de la réaction. Enfin les conditions de déprotonation par le DBU ont été optimisées pour donner le dipeptide **231** de configuration *Z* majoritaire (stéréosélectivité *E/Z* de 3/97) avec un rendement de 73% (**Tableau 10, entrées 3 et 4**).

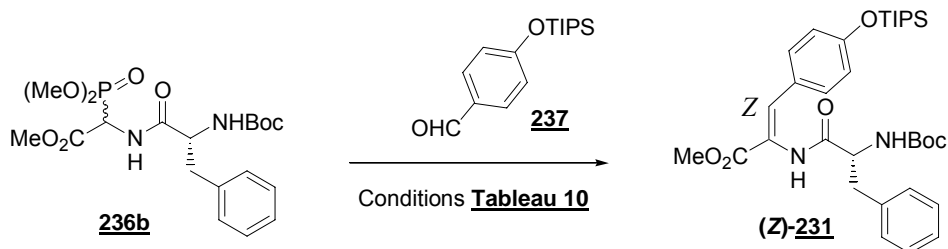


Schéma 68

¹³⁷ B. M. Schiavi, D. J. Richard, M. M. Jouillié, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 620-624.

¹³⁸ Y. Nakamura, C.-G. Shin, *Synthesis* **1994**, 552-555.

¹³⁹ W. Wang, J. Zhang, C. Xiong, V. Hruby, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 2137-2140.

¹⁴⁰ H. Akita, C. Y. Chen, K. Kato, *Tetrahedron* **1998**, 54, 11011-11026.

Tableau 10. Etude de la réaction de Wadsworth-Emmons sur le substrat 236b

| Entrée | Conditions | Rendement global | Ratio <i>E/Z</i> | Rdt du diastéréoisomère <i>Z</i> de 231 * |
|----------|--|------------------|------------------|--|
| 1 | <i>t</i> -BuOK, CH ₂ Cl ₂ , de -78 °C à t.a. | 0% | - | - |
| 2 | NaH, THF, -20 °C | 36% | 50/50 | 18% |
| 3 | DBU, CH ₂ Cl ₂ , t.a. | 50% | 15/85 | 43% |
| 4 | DBU, CH₂Cl₂, de -25 °C à t.a. | 75% | 3/97 | 73% |

* Séparation des isomères par chromatographie sur gel de silice.

Nous avons donc retenu la méthode de déprotonation par le DBU à basse température pour préparer le dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **231** avec un rendement de 73%.

IV.1.3. Bilan de la synthèse du dipeptide clé, le *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe

Les deux approches pour l'obtention du dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **231** sont totalement différentes (**Figure 35**).

La méthode palladocatalysée regroupant les couplages de Heck et de Suzuki permet de synthétiser le dipeptide **231** de configuration *Z*, de façon stéréosélective. La réaction de Heck est totalement inappropriée, parce qu'elle donne un rendement faible de 31%. Par contre la réaction de Suzuki a permis l'obtention du produit **231** avec un rendement de **44%** en **4 étapes** à partir de *N*-Boc-*D*-Phe **238** et *DL*-Ser-OMe. Cette méthode semble efficace, mais il faut tenir compte de la difficulté de préparation de l'acide boronique **233** partenaire lors du couplage (Rdt de 61%) et du coût important des catalyseurs de palladium.

La seconde approche *via* le phosphorylglycine dipeptide **236b** conduit au composé **231** en **6 étapes** avec un rendement global de **35%** à partir des produits commerciaux (acide glyoxylique et benzylcarbamate). En prenant en compte que le *N*-Cbz-(α -PO(OMe)₂)-Gly-OMe **252** est un produit commercial, on réduit considérablement le nombre d'étapes pour accéder à **231**. En effet le composé **231** est obtenu en **3 étapes** à partir du dérivé de phosphorylglycine **252** avec un rendement global très bon de **69%**. Notons que la réaction de Wadsworth-Emmons n'est pas stéréosélective, puisqu'elle conduit aux deux isomères *E* et *Z* du produit **231**, avec un ratio *E/Z* de 3/97, ce qui n'est pas un problème car ils ont été aisément séparés par chromatographie sur gel de silice.

Nous avons privilégié par la suite, la préparation du dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **231** *via* l'approche de Wadsworth-Emmons.

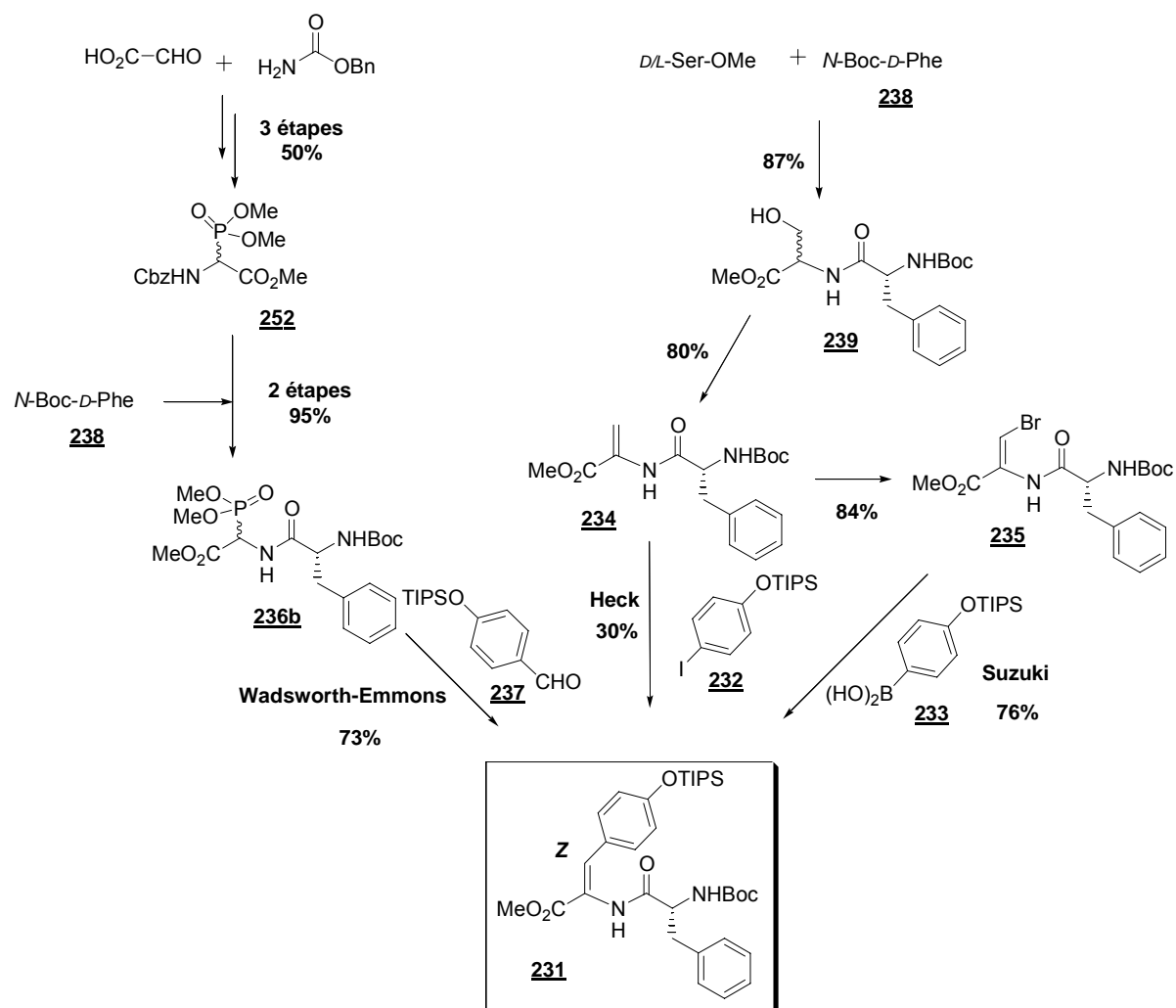


Figure 35. Comparaison des voies d'accès au dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **231**

IV.2. Synthèse des nucléophiles dipeptides *D*-Phe-*V*- Δ Tyr(OTIPS)-OMe et *D*-Phe-*V*- Δ Tyr(OTIPS)-Ot-Bu

Nous avons décrit dans la section précédente, la construction du motif Δ Tyr (de configuration *Z*) dans le dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **231**. Il fallait ensuite relever un second défi : Comment vinyloguer le motif Δ Tyr du composé **231** pour accéder au motif *V*- Δ Tyr $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturé de configuration *Z* et *E* ?

Après avoir créé ce motif *V*- Δ Tyr, nous examinerons l'accès au dipeptide nucléophile **155** que nous avons identifié au début de ce chapitre (Figure **24**).

IV.2.1. Vinylogation du motif Δ Tyr en V- Δ Tyr

Nous nous sommes intéressés par la suite à la vinylogation du motif Δ Tyr du dipeptide **231** par développement du côté C-terminal (**Schéma 69**). Notre intention a été de transformer le dipeptide ester **231** en aldéhyde **253**, puis de faire réagir ce dernier avec un nucléophile phosphoré, dans une réaction de type Wittig ou Wadsworth-Emmons, pour synthétiser sélectivement le motif ester α,β -insaturé de configuration *E*.

Trois variantes ont été examinées (**Schéma 69**) :

- Voie 1 par réduction directe de l'ester **231** en aldéhyde **253** puis vinylogation.
- Voie 2 par réduction en l'alcool allylique intermédiaire **254** qui sera réoxydé et vinylogué pour obtenir le dipeptide **256**.
- Voie 3 passant par l'amide de Weinreb **255** qui sera réduit sélectivement en aldéhyde **253** et vinylogué pour obtenir le dipeptide **256**.

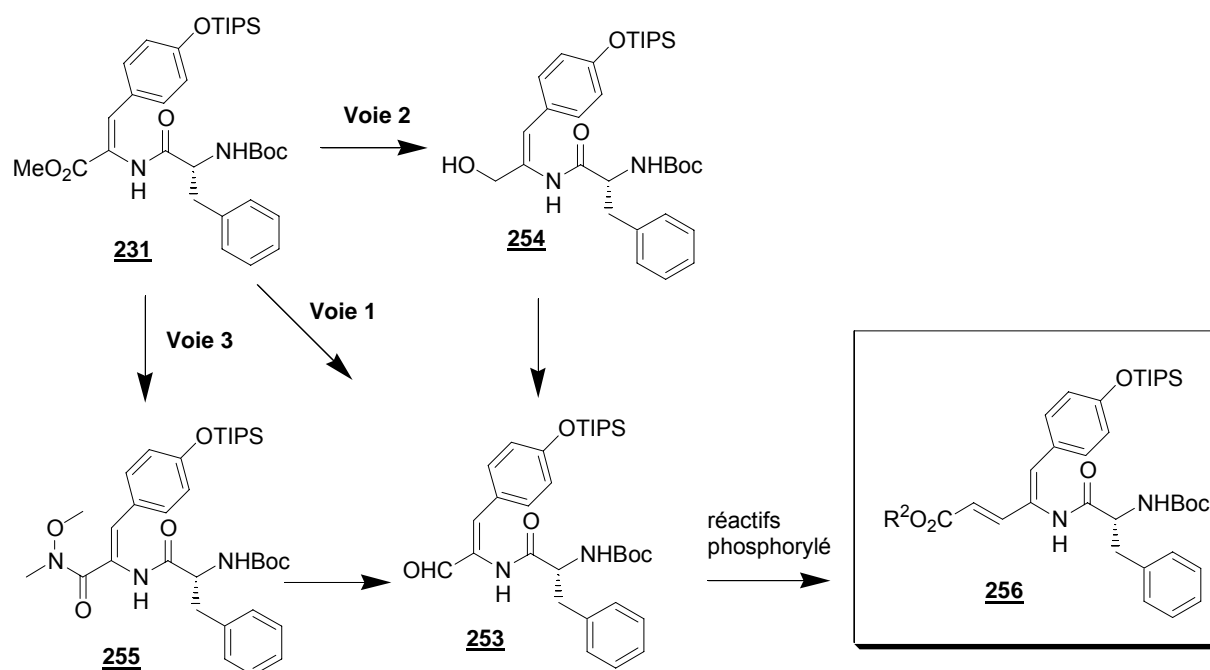


Schéma 69

IV.2.1.a. Voie 1 : Tentatives de réduction du dipeptide ester en aldéhyde

Nous avons dans un premier temps essayé de réduire l'ester méthylique **231** à l'aide du DIBAL-H qui est un réactif préconisé pour les réductions partielles d'ester en aldéhyde^{49b},

^{141,142}. Malheureusement, dans les conditions opératoires classiques à -78°C , le traitement du dipeptide **231** avec 1,2 équivalents de DIBAL-H dans CH_2Cl_2 , n'a pas donné la moindre trace d'aldéhyde. Par contre nous avons récupéré du produit de départ en mélange avec l'alcool allylique **254**. Quels que soient le temps de réaction et le nombre d'équivalents de DIBAL-H employés, nous avons toujours obtenu l'alcool **254**, avec un rendement allant de 32 à 50% (**Schéma 70**).

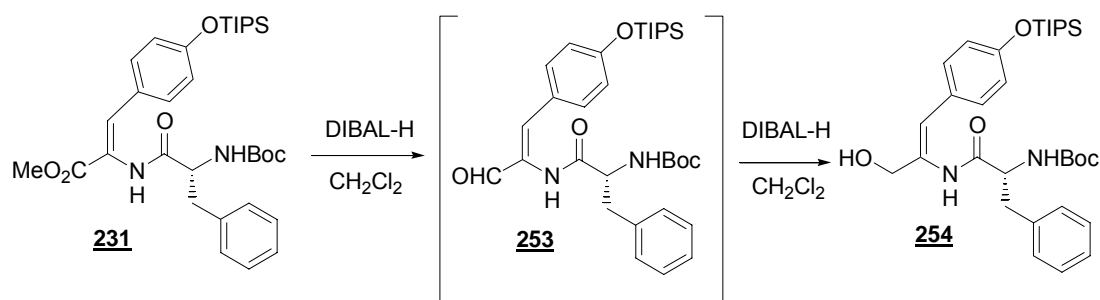


Schéma 70

Nous avons donc rencontré un problème de sur-réduction, que nous n'avons pas réussi à contrôler et dont le mécanisme est présenté sur la **Figure 36**. Pour palier à ce problème de sur-réduction, nous avons envisagé la seconde voie passant par l'amide de Weinreb **255**.

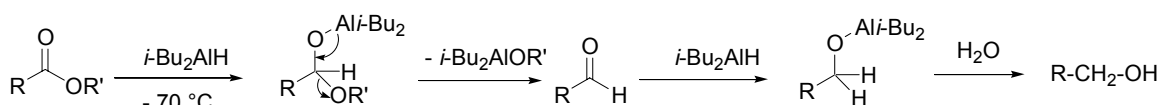


Figure 36. Mécanisme de la sur-réduction d'ester en alcool

IV.2.1.b. Voie 2 : Réduction de l'amide de Weinreb en aldéhyde, puis vinylogation

Pour réduire le dipeptide ester **231** en aldéhyde **253**, nous nous sommes tourné vers une méthode alternative faisant intervenir un intermédiaire un amide de Weinreb **255**, car il ne peut y avoir de sur-réduction. En effet l'aldéhyde est seulement libéré lors de l'hydrolyse de la réaction¹⁴³. Cette approche a déjà connu un succès et a été retenu précédemment pour la synthèse d' α -aminoaldéhydes (voir section III.1.1)⁶⁸⁻⁷³. Nous avons donc synthétisé en une seule étape l'amide de Weinreb intermédiaire **255** à partir de l'ester **231**, par addition de

¹⁴¹ E. G. Baggiolini, H. L. Lin, G. Pizzolato, M. R. Uskokovic, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 6460-6462.

¹⁴² J. C. Lee, J. K. Cha, *Tetrahedron* **2000**, 56, 10175-10184.

¹⁴³ S. Nahm, S. M. Weinreb, *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 3815-3818.

l'anion de la *N,O*-diméthylhydroxylamine avec un rendement de 93% (**Schéma 71**)¹⁴⁴. L'amide de Weinreb **255** a ensuite été réduit en aldéhyde **253** de façon contrôlée par action de l'hydruire de lithium et d'aluminium avec un rendement de 49%, suivant l'un des protocoles de la littérature (**Schéma 71**)⁷³.

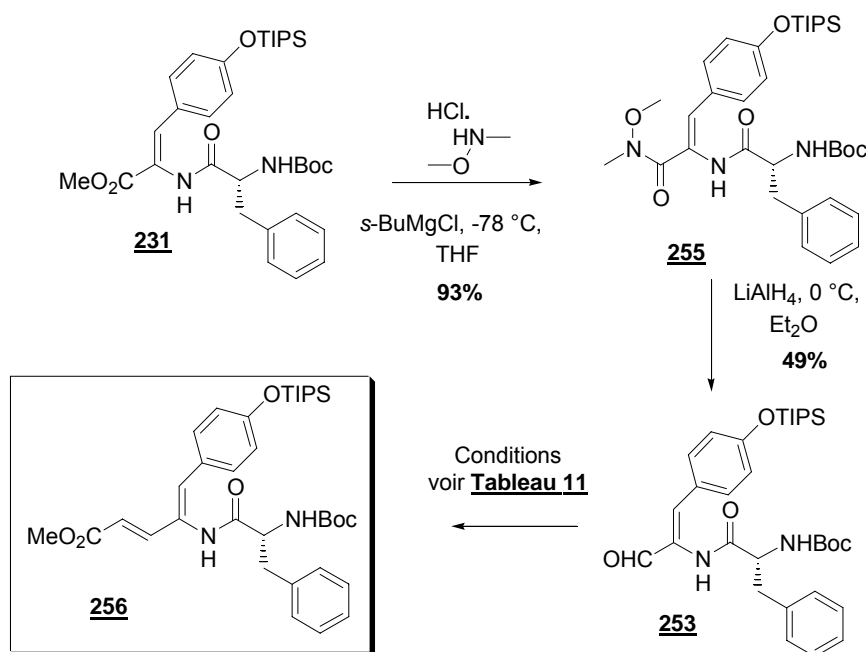


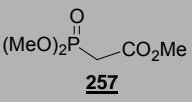
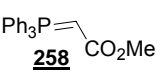
Schéma 71

Nous avons ensuite vinylogué le dipeptide aldéhyde **253** à l'aide de réactifs phosphorylés (**Schéma 71**). Le *N*-Boc-*D*-Phe-*V*- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **256** a été obtenu par une réaction de Wadsworth-Emmons sur l'aldéhyde **253** dans le THF en présence de l'anion du diéthylphosphonoacétate de méthyle **257**. Le mode opératoire a consisté en une déprotonation du phosphonate **257** avec NaH, sur lequel a été rajouté lentement une solution de l'aldéhyde **255** pour donner le dipeptide attendu **256** (**Schéma 71**)¹⁴⁵. Ce composé stable a été obtenu sous la forme d'une mousse amorphe avec un rendement de 75%. (**Tableau 12**, entrée 1). La réaction de Wittig sur l'aldéhyde **253** avec le triphénylphosphorane commercial **258** a également été effectuée mais elle n'a pas permis d'améliorer le rendement (**Tableau 12**, entrée 2).

¹⁴⁴ J. M. Williams, R. B. Jobson, N. Yasuda, G. Marchesini, U.-H. Dolling, E. J. J. Grabowski *Tetrahedron Lett.* **1995**, 31, 5461-5464.

¹⁴⁵ C. Grison, S. Genève, E. Halbin, P. Coutrot, *Tetrahedron* **2001**, 57, 4903-4923.

Tableau 12. Réactions de Wittig et Wadsworth-Emmons pour l'obtention du motif V-ΔTyr

| Entrée | Réactifs de Vinylogation | solvant | conditions | Rdt en 256 |
|--------|---|---------|-------------------|-------------------|
| 1 | Phosphonate | THF | NaH, de 0°C à t.a | 75% |
| |  257 | | | |
| 2 | Phosphorane | toluène | Reflux | 55% |
| |  258 | | | |

Nous avons obtenu dans les deux cas, un seul stéréoisomère du produit **256**, de configuration *E*. Ceci a été déterminé en RMN ^1H par l'observation d'un doublet de l'un des protons éthyléniques, au déplacement chimique de 5,93 ppm avec une constante de couplage ($J = 15,4$ Hz) caractéristique d'une oléfine *E*.

Les mécanismes simplifiés des réactions de Wadsworth-Emmons et de Wittig sont présentés ci-dessous et montre qu'il existe un équilibre thermodynamique entre les intermédiaires bétaines (**Figure 37**). La stéréochimie de l'oléfine obtenue est déterminée par la différence d'énergie nécessaire pour l'évolution des deux formes diastéréoisomériques de la bétaine. Celle qui évolue le plus facilement possède les groupements ester et alkyle les plus éloignés l'un de l'autre ; en l'occurrence c'est la bétaine-anti qui donne l'oléfine *E*.

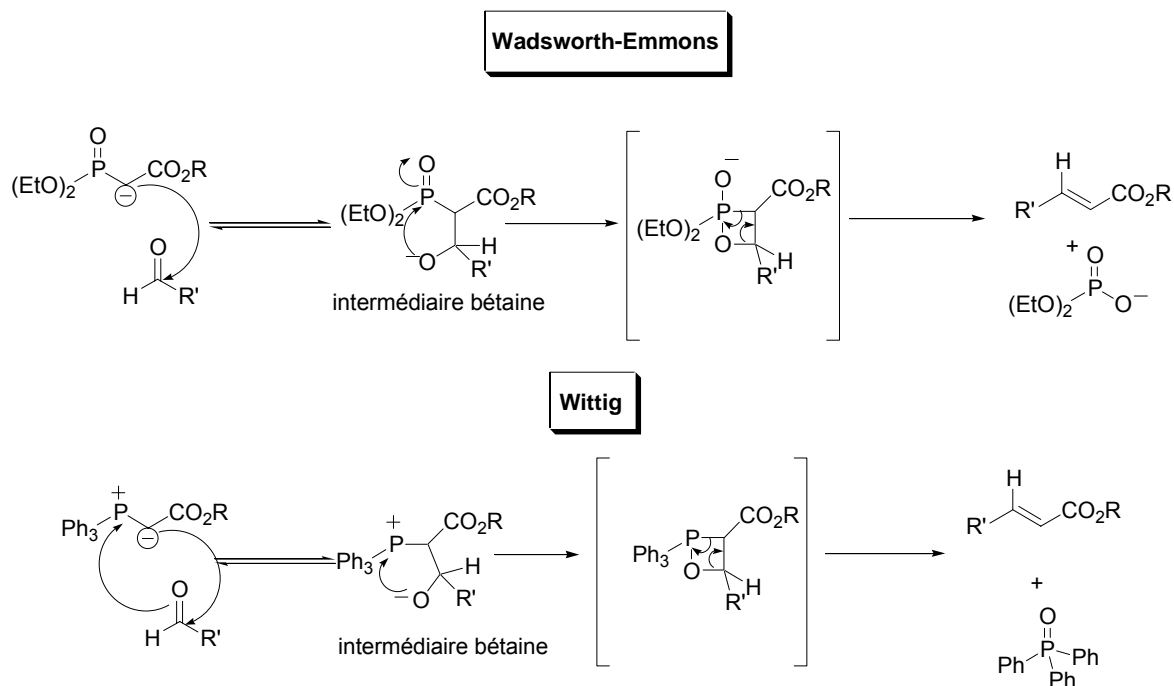


Figure 37. Mécanismes simplifiés des réactions de Wadsworth-Emmons et de Wittig

Cette séquence a permis d'accéder au dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **256**, comportant le motif V- Δ Tyr avec les configurations souhaitées *E* et *Z* des deux insaturations. Cependant le rendement global pour l'obtention de **256** a été assez faible (31%) et l'expérience montre qu'il est parfois plus efficace de réduire l'ester en alcool puis de réoxyder celui-ci en aldéhyde.

IV.2.1.c. Voie 3 : Réduction de l'ester en alcool allylique puis réaction tandem oxydation-vinylogation

Dans l'objectif d'améliorer l'obtention de l'aldéhyde **253**, nous avons examiné une séquence réduction-oxydation partielle. Nous avons réduit l'ester **231** avec du LAH dans le THF à 0°C pour ne pas réduire l'amide ou le carbamate présent dans la même molécule. La réaction est stoppée par hydrolyse puis acidifiée (HCl, 2 M) pour obtenir l'alcool **254** avec un rendement de 86% (**Schéma 72**).

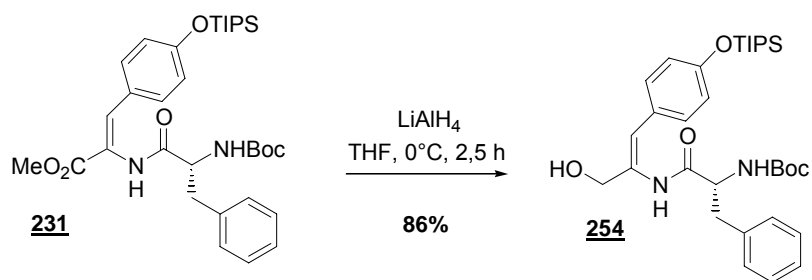


Schéma 72

Plusieurs systèmes d'oxydations partielles ont été envisagés pour réoxyder l'alcool **254** en aldéhyde **253** (**Schéma 73**). Nous avons recherché le meilleur réactif d'oxydation en conditions douces, en comparant notamment le periodinane de Dess Martin (DMP)/pyridine^{146,147}, le MnO₂ activé¹⁴⁸, le radical de tétraméthylpipéridinoxy (TEMPO)/*N*-chlorosuccinimide (NCS)¹⁴⁹ et le TEMPO/CuCl/O₂^{150,151} (**Tableau 13**).

¹⁴⁶ J. Uenishi, R. Kawahama, A. Tanio, S. Wakabayashi, O. Yonomitsu, *Tetrahedron* **1997**, 53, 2439-2448.

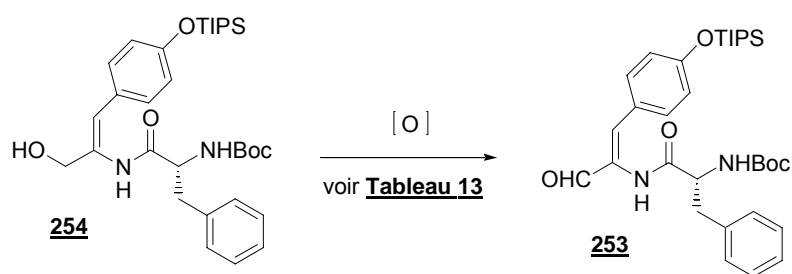
¹⁴⁷ S. K. Chattopadhyay, G. Pattenden, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **2000**, 2429-2454.

¹⁴⁸ L. Blackburn, C. Pei, R. J. K. Taylor, *Synlett* **2002**, 215-218.

¹⁴⁹ J. Einhorn, C. Einhorn, F. Ratajczak, J.-L. Pierre, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 7452-7454.

¹⁵⁰ R. A. Sheldon, I. W. C. E. Arends, G.-J. T. Brink, A. Dijkman, *Acc. Chem. Res.* **2002**, 35, 774-781.

¹⁵¹ M. F. Semmelhack, C. R. Schmidt, D. A. Cortês, C. S. Chou, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 3374-3376.



Les tentatives d'oxydation utilisant le TEMPO n'ont pas été très fructueuses, puisque dans le meilleur des cas l'aldéhyde **253** a été obtenu avec un rendement de 33% (**Tableau 13, entrées 1 et 2**). L'oxydation en présence de MnO₂ activé n'a pas donné de meilleur résultat (**Tableau 13, entrée 3**), par contre l'utilisation de DMP a apporté une légère amélioration pour la préparation de l'aldéhyde **253** avec un rendement de 41% (**Tableau 13, entrée 4**).

Tableau 13. Système d'oxydation partielle de l'alcool 254 en aldéhyde 253

| Entrée | oxydant | Système d'oxydation | Solvant | Rdt de 253 |
|----------|------------------|---|--|-------------------|
| 1 | TEMPO | TEMPO-NCS-TBACl -NaHCO ₃ , K ₂ CO ₃ | CH ₂ Cl ₂ , H ₂ O | -* |
| 2 | TEMPO | TEMPO-CuCl-O ₂ | DMF | 33% |
| 3 | MnO ₂ | MnO ₂ activé <5μ | CH ₂ Cl ₂ | 30% |
| 4 | DMP | DMP, pyridine | CH₂Cl₂ | 41% |

* produit non identifié, différent de **253** a été obtenu.

Selon la littérature, le mécanisme d'oxydation avec le CuCl-TEMPO, fait intervenir un cycle catalytique avec entrée d'oxygène pour régénérer le catalyseur en libérant de l'eau dans le milieu réactionnel¹⁵¹. Lors de cette réaction (**Tableau 13, entrée 2**), un sous produit de type imine **259** a été obtenu, sans doute le résultat d'une déprotection de l'amine par hydrolyse acide, puis condensation sur l'aldéhyde (**Figure 38**).

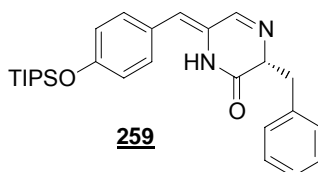


Figure 38. Sous produit obtenu lors de la réaction avec CuCl-TEMPO-O₂

Après avoir synthétisé l'aldéhyde **253** plusieurs fois, nous nous sommes rendu compte de son instabilité, notamment en milieu acide et sur silice. C'est pourquoi, nous avons décidé d'engager l'aldéhyde **253** dans la réaction de vinylogation après un traitement minimal de sa réaction de préparation, afin d'éviter toute dégradation. Ainsi, en utilisant diverses conditions réactionnelles d'oxydation adéquates (le perruthénate de tétrapropylammonium (TPAP)¹⁵² en plus des autres systèmes d'oxydation précédemment utilisés) traitées par une simple filtration sur Célite, nous avons diminué le phénomène de dégradation de l'aldéhyde **253** (Schéma 74). Les échantillons ainsi obtenus de l'aldéhyde **253** ont été engagés dans une réaction de Wadsworth-Emmons avec le phosphonate **257**. Les résultats sont regroupés dans le **Tableau 14**.

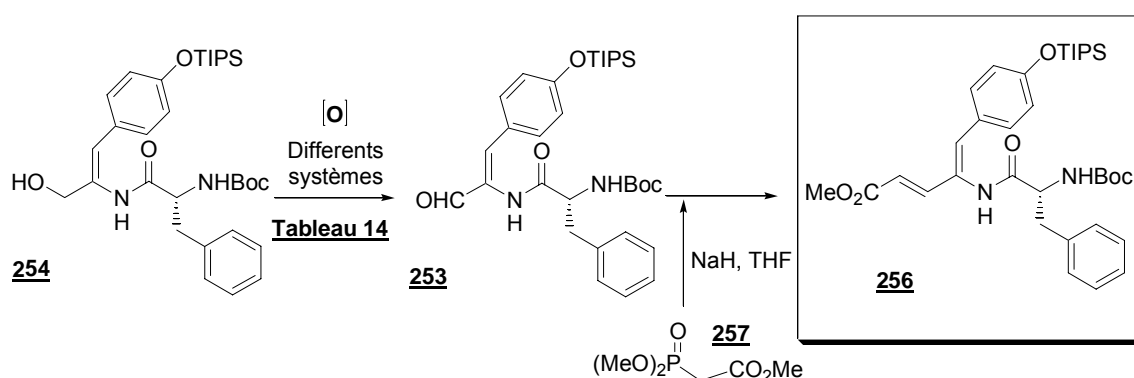


Schéma 74

Tableau 14. Réactions successives d'oxydation-vinylogation de **254**

| Entrée | Conditions | Rdt (2 étapes) de 256 |
|--------|---|---------------------------------|
| 1 | 1) CH_2Cl_2 , TPAP, TM4A, NMO, 24 h 2) Phosphonate 257 / NaH (3 éq), THF, 0°C à t.a. sur 1h | 41% |
| 2 | 1) CH_2Cl_2 , MnO_2 activé (15 éq), reflux, 36 h 2) 257 / NaH (3 éq), THF, 0°C à t.a. sur 1h | 49 % |
| 3 | 1) CH_2Cl_2 , DMP (1,5 éq), py., 1 h 2) 257 / NaH (3 éq), THF, 0°C à t.a. sur 1h | 42% |
| 4 | 1) TEMPO (0,1 éq), CuCl (0,1 éq), O_2 , 12 h 2) 257 / NaH (3 éq), THF, 0°C à t.a. sur 1h | 55% |

¹⁵² Revue : S. V. Ley, J. Norman, W. P. Griffith, S. P. Marsden, *Synthesis* **1994**, 639-666.

Les rendements en ester vinylogue **256** sur les deux étapes d'oxydation-vinylogation à partir de l'alcool **254** (**Tableau 14**) sont meilleurs que les résultats d'obtention de l'aldéhyde **253**, (**Tableau 13**). Ces résultats assez homogènes et encourageants nous ont poussés à examiner des réactions tandem, utilisant un oxydant en présence d'un réactif phosphorylé.

Nous avons donc repris certains systèmes d'oxydation précédemment utilisés, pouvant être compatible avec l'utilisation *in situ* du phosphorane **258**. Les méthodes tandem d'oxydation-vinylogation par un phosphorane décrites dans la littérature sont :

- une méthode tandem reportée par Barrett et coll.¹⁵³ utilisant comme oxydant le DMP.
- une seconde méthode décrite par Taylor^{154a,b} utilisant le MnO₂ activé pour l'oxydation d'alcools allyliques.

-Une troisième méthode utilisant du permanganate de barium (BaMnO₄) décrite par Matsuda et coll.¹⁵⁵.

Nous avons donc mis en place les trois systèmes différents d'oxydation-vinylogation tandem utilisant le phosphorane **258** dont les résultats sont reportés ci-dessous (**Schéma 75**, **Tableau 15**).

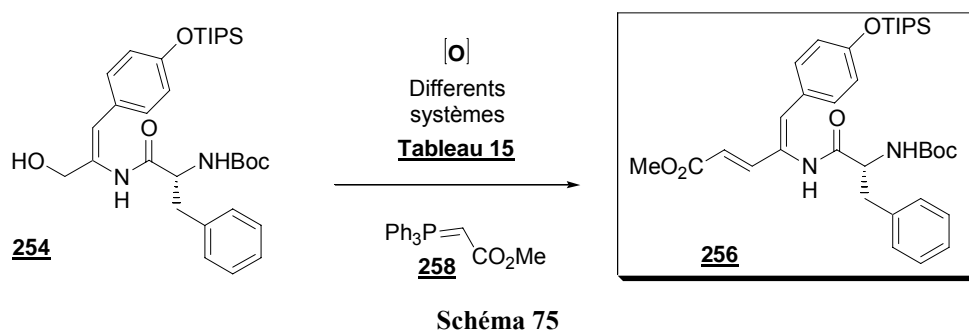


Tableau 15. Méthode Tandem d'oxydation-vinylogation de l'alcool 254

| Conditions | Rdt (2 étapes) de 256a |
|--|----------------------------------|
| DMP (1,2 éq), PhCO ₂ H (2 éq), DMSO/CH ₂ Cl ₂ , 258 (1,5 éq) à t.a., 1h | 20% |
| BaMnO ₄ , CH ₂ Cl ₂ , 258 (1,5 éq), t.a., 3 jours | 15%* |
| CH₂Cl₂, MnO₂ activé (20 éq), 258 (1.5 éq), Δ, 36h | 75% |

* récupération de 66% du produit de départ **254**.

¹⁵³ A. G. M. Barrett, D. Hamprecht, M. Ohkubo, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 9376-9378.

¹⁵⁴ a) X. Wei, R. J. K. Taylor, *tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 3815-3818; b) X. Wei, R. J. K. Taylor, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 616-620.

¹⁵⁵ S. Shuto, S. Niizuma, A ; Matsuda, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 4489-4493.

Le meilleur rendement en produit **256** a été obtenu en utilisant MnO_2 activé comme agent d'oxydation, correspondant à **75%** pour deux étapes à partir de l'alcool **254**. La séquence réduction, puis réaction tandem oxydation-vinylogation a permis d'accéder en trois étapes au dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **256**, avec un rendement global de 64%, ce qui est nettement meilleur que la séquence passant par l'aldéhyde **253** (**Schéma 76**).

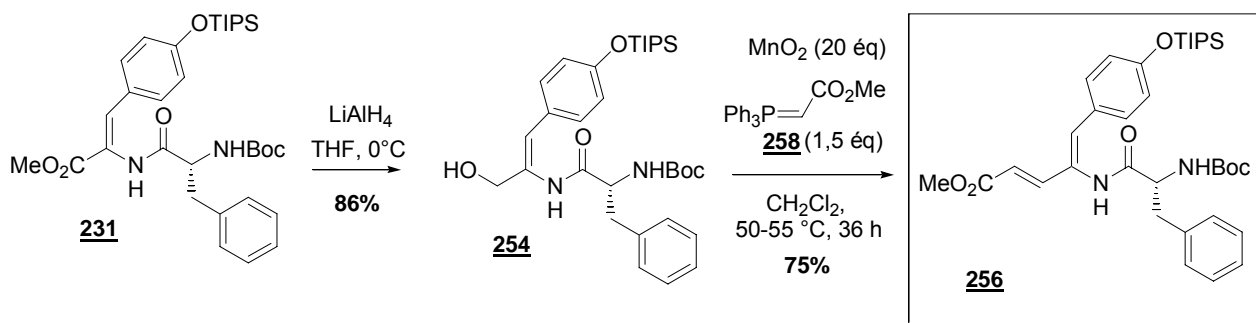


Schéma 76

IV.2.1.d. Généralisation de la méthode tandem d'oxydation-vinylogation.

Ayant trouvé une voie d'accès satisfaisante au dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **256**, nous avons décidé de synthétiser deux autres dipeptides **263** et **264** ayant le motif V- Δ Tyr et comportants des groupements protecteurs *C* et *N*-terminaux différents (**Schéma 77**).

Nous avons réalisé la réaction tandem oxydation-vinylogation de l'alcool **254** avec le *t*-butoxy-carbonylméthylène triphénylphosphorane **262** commercial, pour obtenir le dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-Ot-Bu **263** avec à nouveau un bon rendement de 65%.

Pour la synthèse du dipeptide *N*-Fmoc-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-Ot-Bu **264**, nous avons d'abord remplacé le groupement protecteur Boc du dipeptide ester **231** par le groupement Fmoc, en utilisant une séquence déprotection-reprotection pour obtenir le dipeptide **260** avec un rendement de 93% (**Schéma 77**). Celui-ci a été réduit selon le protocole précédemment utilisé avec LAH pour obtenir l'alcool **261** avec 79% de rendement. Cet alcool **261** a été soumis à une réaction tandem oxydation-vinylogation avec le phosphorane **262**, pour obtenir le dipeptide vinylogue **264** (**Schéma 77**). Le groupement Fmoc tend à se cliver en présence de phosphorane, mais en conduisant la réaction à une température modérée, nous avons obtenu le dipeptide **264** avec un rendement de 58% (**Schéma 77**). Les deux composés **263** et **264** comportent bien une nouvelle insaturation de configuration *E*, déterminée comme

précédemment par la présence en RMN ^1H d'un doublet avec des constantes de couplage pour chacun de 15,2 Hz et de 15,0 Hz.

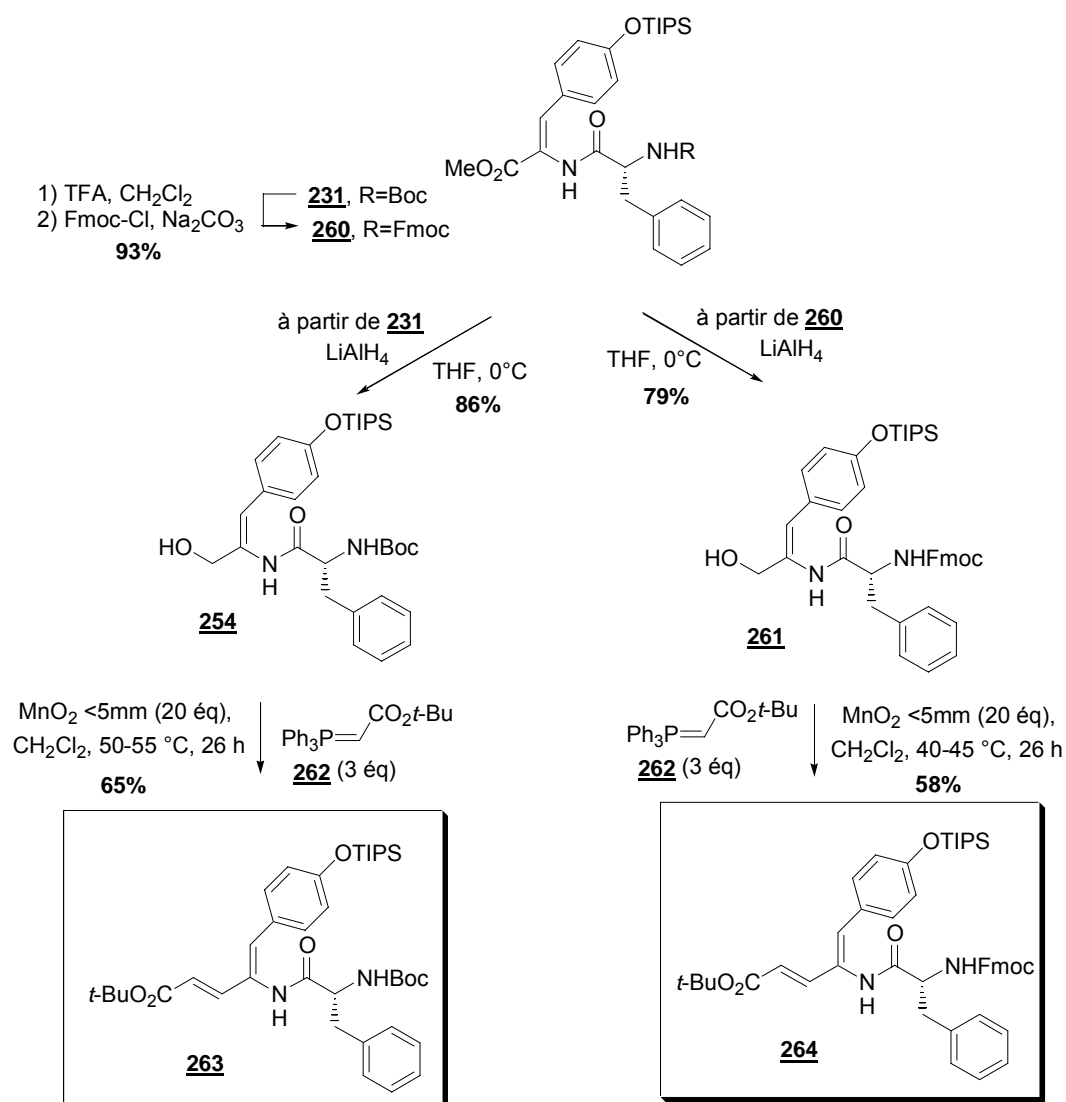
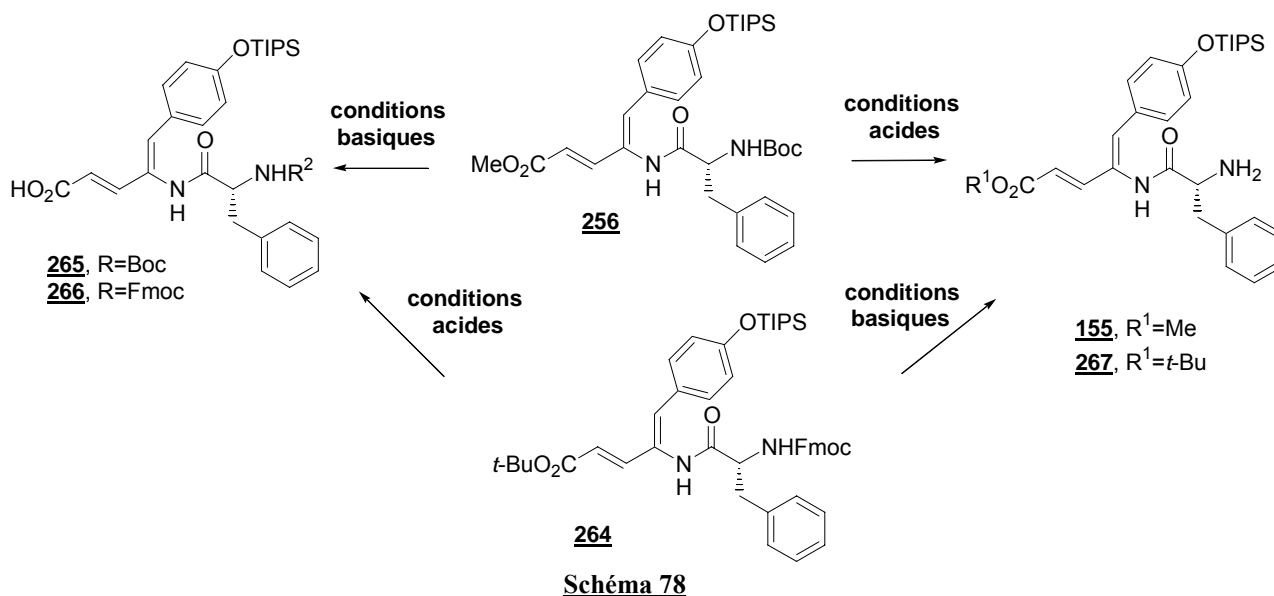


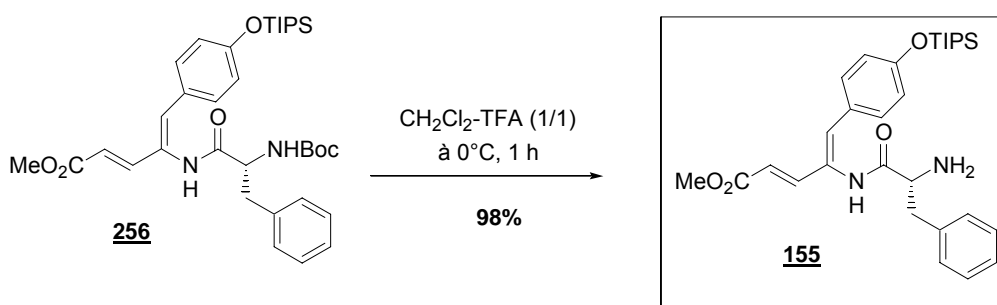
Schéma 77

Ainsi nous avons en notre possession trois dipeptides comportant le motif V- Δ Tyr, les composés **256**, **263** et **264**, protégés orthogonalement de façon inverse sur les extrémités *C* et *N*-terminales. En effet le premier **263** pourra être déprotégé du côté *C*-terminal par une base et du côté *N*-terminal par un acide, quant au dipeptide **264** il pourra être déprotégé du côté *C*-terminal par un acide et du côté *N*-terminal par une base (**Schéma 78**).



IV.2.2. Obtention des nucléophiles dipeptides

Tout d'abord, le dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **256** a été déprotégé dans des conditions classiques utilisant un mélange CH₂Cl₂-TFA (1/1; 125 éq) pour donner après lavage basique avec NaHCO₃, le nucléophile **155** de manière quasi quantitative (**Schéma 79**)⁵⁹.



Ensuite, nous avons aussi tenté de déprotégé sélectivement le dipeptide **263** qui n'a pas de protection orthogonale (deux fonctions tertibutyles aux extrémités *C* et *N*-terminales) par des conditions plus spécifiques qui ont été décrites dans la littérature : EtOAc-HCl¹⁵⁶, triflate de triméthylsilyle (TMSOTf)¹⁵⁷ ou encore acide formique (HCO₂H)¹⁵⁸ (**Schéma 80**, **Tableau 16**). Le meilleur résultat pour cette déprotection sélective a été obtenu à l'aide de

¹⁵⁶ F. S. Gibson, S. C. Bergmeier, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3216-3218.

¹⁵⁷ J. Borgulya, K. Bernauer, *Synthesis*, **1980**, 545-547.

¹⁵⁸ T. Ogawa, M. Araki, T. Miyamae, T. Okayama, M. Hagiwara, S. Sakurada, T. Morikawa, *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 759-771.

l'acide formique (**Tableau 16**, entrée 3), mais nous avons noté des problèmes de reproductibilité lors de cette réaction dont le succès est lié aux variations de concentration et de température.

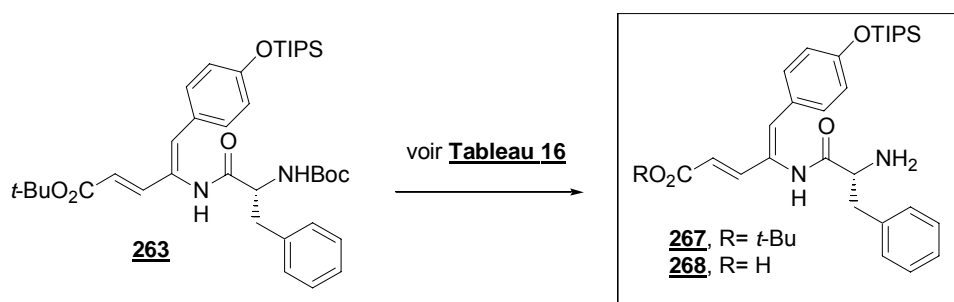


Schéma 80

Tableau 16. Méthodes de déprotection sélective du dipeptide 263

| Entrée | Conditions | Produit obtenu | Rdt |
|----------|---|----------------|-------------------------|
| 1 | HCl-EtOAc (1 M ; 5 éq), 5 h à t.a. | 267 | 64%, conv= 22% * |
| 2 | TMSOTf (1,2 éq), 2,6-lutidine (2 éq), CH ₂ Cl ₂ , 1,5 h à t.a. | 268 | 62% |
| 3 | HCO₂H excès, 1 h à t.a. | 267 | Quant. |

* le produit de départ **263** a bien été récupéré, mais la conversion en **267** est trop faible.

Pour finir, nous avons eu plus de facilité à préparer le dipeptide amine **267** à partir du dipeptide **264**, qui est orthogonalement protégé et qui a été aisément déprotégé de façon totalement sélective sur l'azote *N*-terminal dans un mélange diéthylamine-CH₃CN (1/2; 462 eq) avec un rendement de 90%. Nous avons ainsi obtenu les deux nucléophiles **155** et **267**, protégés de façon complémentaire du côté *C*-terminal (**Schéma 81**).

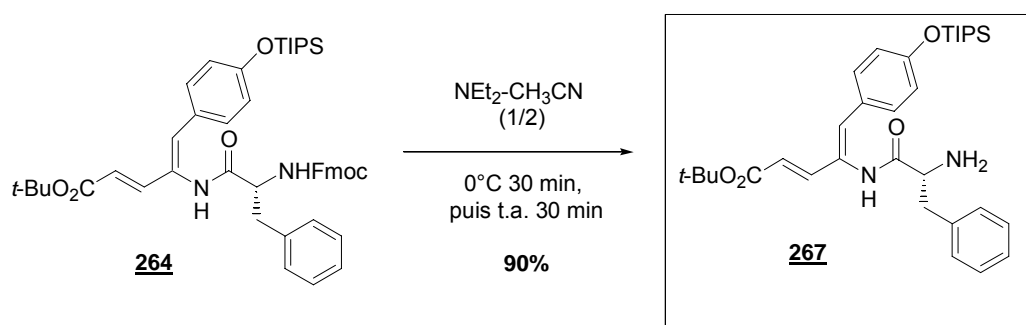


Schéma 81

Nous avons préparé les deux dipeptides nucléophiles amines par déprotection *N*-terminale. Ainsi nous avons pu synthétiser le dipeptide nucléophile *D*-Phe-V-ΔTyr(OTIPS)-OMe **155** en **3 étapes** à partir du dipeptide **231** comportant le motif ΔTyr avec un rendement

de **58%**. Notons que l'amine a été libérée de son sel de TFA par un lavage basique avec une solution de NaHCO_3 saturée.

Le deuxième dipeptide nucléophile *D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-*OT*-Bu **267** a été obtenu en **5 étapes**, toujours à partir de **231**, avec un rendement global de **29%** (**Schéma 82**).

Les deux nucléophiles amines que nous venons de présenter sont préparés juste avant usage dans les réactions de couplage que nous verrons au chapitre V.

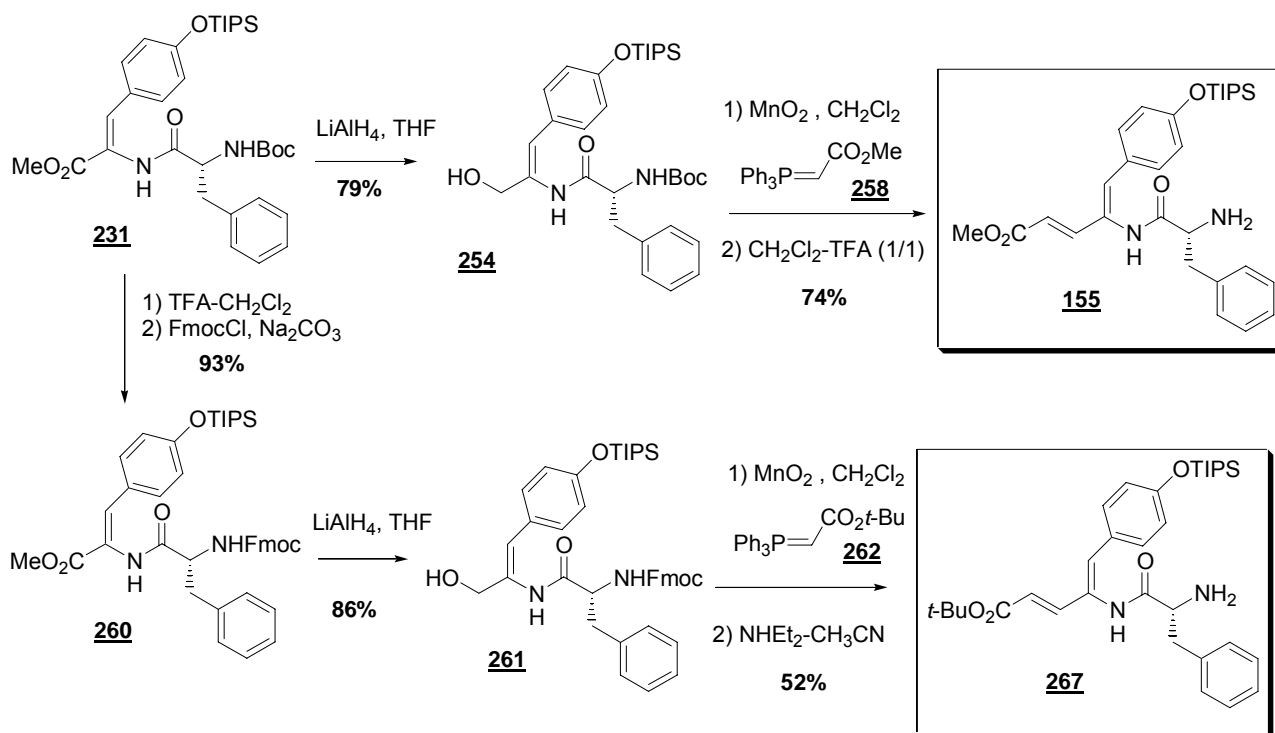


Schéma 82

IV.3. Synthèse du nucléophile térapeptide *D*-Phe-V- Δ Tyr- N^α -CHO-Dpr-Pro-OAllyl

Trois dipeptides comportant le motif *D*-Phe-V- Δ Tyr ont été préparés dans la section précédente. Nous avons ensuite abordé la préparation du nucléophile térapeptidique **111**, que nous avons identifié en début du chapitre. Comme le présente le schéma rétrosynthétique (**Figure 39**), le térapeptide **111** pourrait être obtenu par couplage peptidique entre le dipeptide amine **269** et le dipeptide acide **270**. Ces deux composés **269** et **270** devraient être facilement accessibles à partir de dipeptides que nous avons déjà préparés : le premier à partir de **160** (section III.1.2.d) et le second à partir de **231** (section IV.2.1.c).

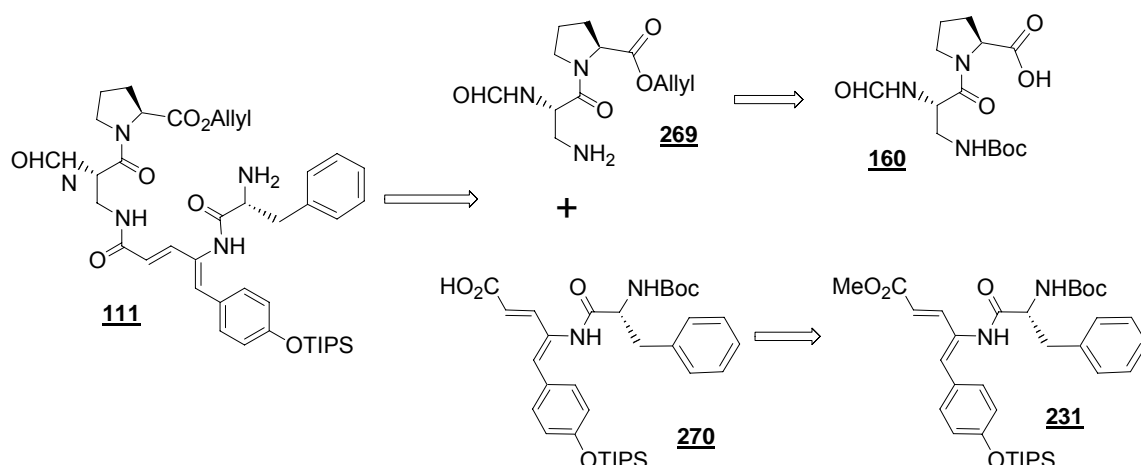


Figure 39. Rétrosynthèse du tétrapeptide 111

Nous allons donc voir dans un premier temps comment préparer le fragment **269**, puis nous discuterons de la saponification du dipeptide ester **231**, c'est-à-dire la déprotection C-terminale pour obtenir le composé **270**. Enfin, nous examinerons en détail le couplage peptidique entre les deux dipeptides **269** et **270** pour obtenir un tétrapeptide qui sera déprotéger sur l'amine pour préparer le tétrapeptide nucléophile **111**.

IV.3.1. Synthèse du dipeptide N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr-Pro-OAllyl

Nous avons décrit dans le chapitre précédent (III.1.2.d), la préparation du dipeptide N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr-Pro **160** en 6 étapes avec un rendement global à partir de Asn de 44% (**Schéma 83**). Nous avons ensuite réalisée la protection orthogonale de l'acide carboxylique de Pro du dipeptide **160** par un groupement allyle, qui est introduit par activation avec de l'EDCi **11** et de la DMAP (**Schéma 83**). Ce dipeptide a ensuite été déprotégé avec un mélange TFA-CH₂Cl₂ et traité avec de la diéthylamine pendant 10 minutes pour libérer l'amine et obtenir le dipeptide **269** avec un rendement de 94% (**Schéma 83**).

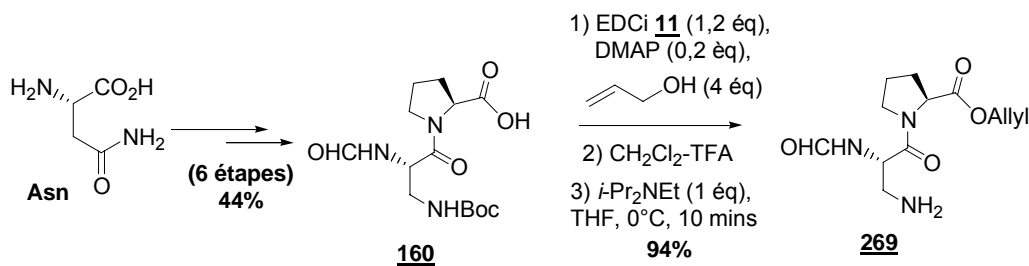


Schéma 83

IV.3.2. Saponification du résidu V- Δ Tyr

Plusieurs méthodes ont été tentées pour obtenir le dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS) **270**. Les différents essais de saponification du dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **256** par les méthodes classiques de saponification en milieu basique (LiOH, NaOH) n'ont pas permis d'isoler le composé attendu **270** (Schéma 85)^{159,160,161}.

En effet, un excès de soude dans l'éthanol à 0°C sur le composé **231**, a permis l'obtention du dipeptide acide doublement déprotégé **271**, de manière quantitative (Schéma 85)¹⁶².

En présence d'une quantité stoechiométrique de lithine, seule la déprotection du groupement silyléther du phénol a été observée pour donner l'ester **272** avec un rendement de 45% (Schéma 85). Aucune condition n'a donc permis la coupure sélective de l'ester de méthyle.

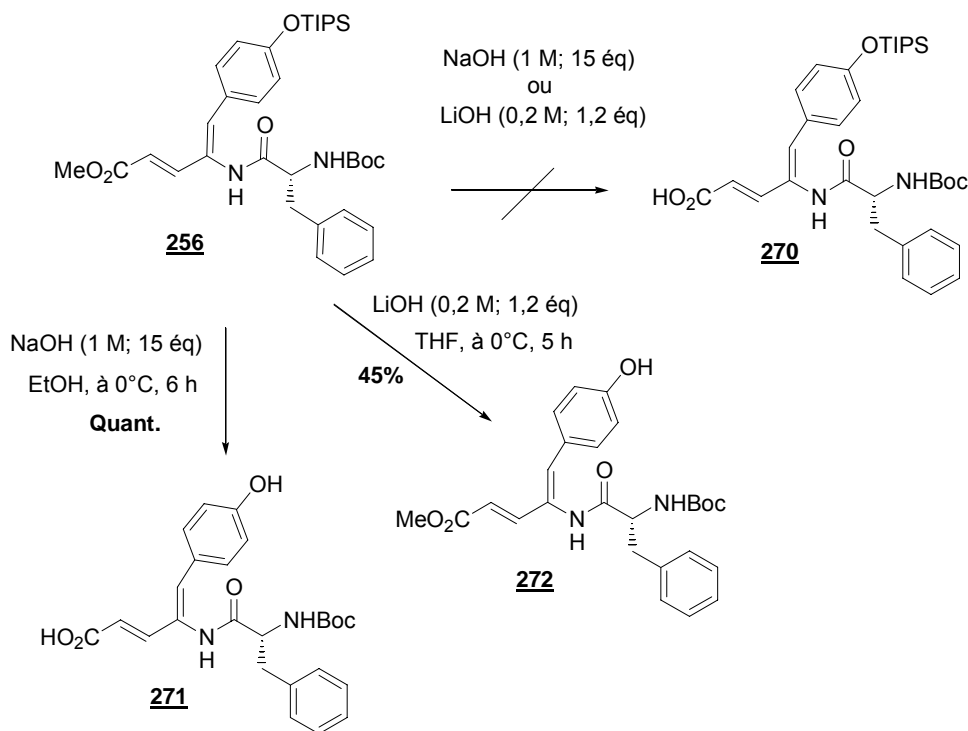


Schéma 85

La déprotection du phénol en présence de lithine est une démonstration de la réactivité particulière du motif V- Δ Tyr ; système totalement conjugué (Figure 40). En effet, les éthers

¹⁵⁹ L. L. Klein, L. Li, H-J. Chen, C. B. Curty, D. A. DeGoey, D. A. Grampovnik, C. L. Leone, S. A. Thomas, C. M. Yeung, K. W. Funk, V. Kishore, E. O. Lundell, D. Wodka, J. A. Meulbroek, J. D. Alder, A. M. Nilius, P. A. Lartey, J. J. Plattner, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, 8, 1677-1696.

¹⁶⁰ T. Shioiri, Y. Hamada, *Synlett* **2001**, 2, 184-201.

¹⁶¹ Z-J. Yao, B. Ye, K. Miyoshi, A. Otaka, T. R. Burke, *Synlett* **1998**, 428-429.

¹⁶² H. Moriyama, Y. Hiramatsu, T. Kiyoi, T. Achiba, Y. Inoue, H. Kondo, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 1479-1491.

silylés de phénol sont décrits pour être résistants aux différentes conditions basiques d'hydrolyse, d'autant plus à basse température¹⁶³. Or dans notre cas, l'hydrolyse du dipeptide **256** a conduit au clivage du groupement silylé, parce que le système totalement délocalisé des deux insaturations et du phényle du résidu V- Δ Tyr est probablement soumis à un effet push-pull impliquant les fonctions phénol et carbonyle des deux extrémités. L'effet push-pull se caractérise par :

-l'effet attracteur du carbonyle de l'ester diminue la densité électronique du phénol à travers la délocalisation du motif V- Δ Tyr, fragilisant ainsi la liaison Si-O.

-l'effet électroattracteur du phénol tend à augmenter la densité électronique du carbonyle de l'ester à travers la délocalisation du motif V- Δ Tyr, rendant l'hydrolyse de l'ester méthylique difficile.

Après cette analyse, il paraît difficile de pouvoir hydrolyser l'ester méthylique du dipeptide **256** en milieu basique, sans pour autant cliver le silyéther de phénol, c'est pourquoi nous nous sommes tournés vers des méthodes alternatives.

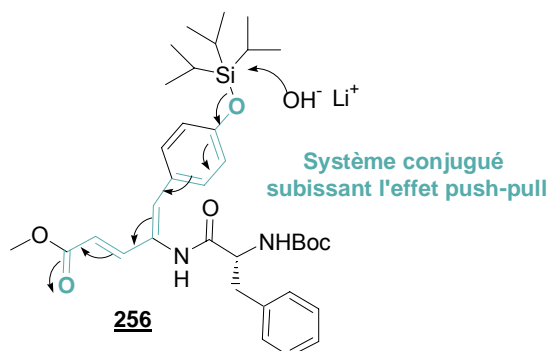


Figure 40. Délocalisation du motif V- Δ Tyr

D'autres méthodes douces inspirées d'une revue sur les méthodes de saponification ont été envisagées pour essayer de déprotéger sélectivement l'ester méthylique **256**¹⁶⁴.

L'une de ces méthodes a été l'utilisation d'oxyde de tributyle étain (BBTO), qui est capable de déprotéger certains esters α,β -insaturés simples¹⁶⁵. Le traitement de l'ester **256** avec BBTO à chaud dans le toluène n'a donné que quelques traces de l'ester d'étain, mais aucune trace du dipeptide acide **270** n'a été observée (**Schéma 86**).

Des enzymes, telles que : une estérase (PLE = Pig Liver Esterase)¹⁶⁶ ou une lipase (PPL = Porcine Pancrease Lipase)¹⁶⁷, sont parfois utilisées pour effectuer l'hydrolyse d'une

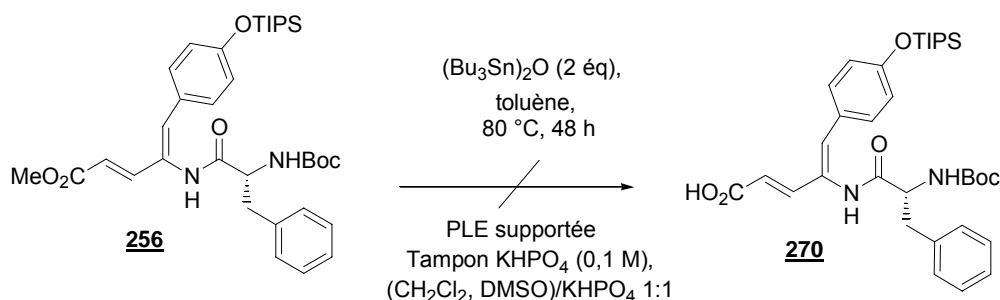
¹⁶³ T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Edn.*, **1999**, Wiley, New-York, p 273-276.

¹⁶⁴ *Revue* : C. J. Salomon, E. G. Mata, O. A. Mascaretti, *Tetrahedron* **1993**, 49, 3691-3748.

¹⁶⁵ C. J. Salomon, E. G. Mata, O. A. Mascaretti, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 7259-7266.

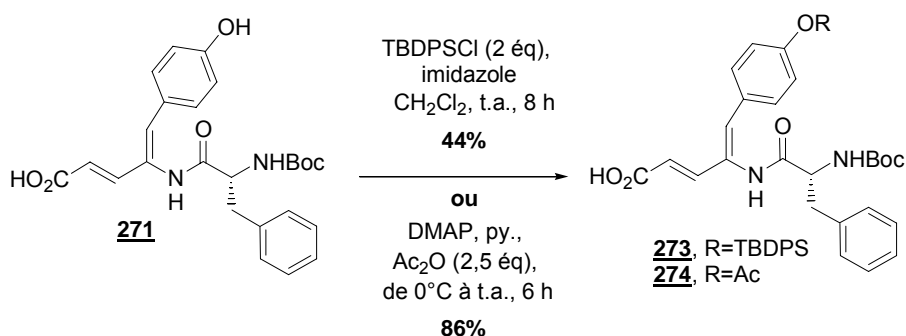
¹⁶⁶ E. J. Toone, M. J. Werth, J. B. Jones, *J. Am. Chem. Soc.* **1990** 112, 4946-4952.

fonction ester dans des structures assez complexes. Après quelques tentatives avec la PLE supportée par un polymère, dans un milieu biphasique (avec du CH_2Cl_2 ou du DMSO comme solvant organique), nous avons récupéré pratiquement de façon quantitative le produit de départ **256** et aucune trace du composé **270** n'a été observée (**Schéma 86**). Cet échec a été du, soit parce que le dipeptide **256** n'est pas un bon substrat de l'enzyme ou parce que le système biphasique n'a pas permis une solubilisation correcte du substrat.

**Schéma 86**

N'ayant trouvé aucune alternative pour saponifier le dipeptide ester **256**, nous avons ensuite essayé de reprotéger le phénol du dipeptide **271** sous forme d'éther silylé TBDPS et nous avons obtenu le produit **273** avec un rendement moyen de 44% (**Schéma 87**). La réactivité particulière du motif V- ΔTyr ayant été mise en avant du fait de l'effet push-pull, il est possible que la nucléophile de l'hydroxy du phénol soit affaiblie, ce qui expliquerait le faible rendement de la reprotection. Le groupement protecteur TBDPS a été choisi pour sa résistance accrue par rapport aux autres éthers silylés, car nous souhaitons maintenir un groupement protecteur sur le phénol.

Voulant essayer d'annihiler cet effet push-pull, nous avons souhaité reprotéger le phénol du dipeptide **271** avec un groupement électro-attracteur : un acétyle. Cette réaction en présence de pyridine et d'anhydride acétique a été un peu plus facile, sans doute par l'utilisation d'une base plus forte (pyridine) et nous a permis l'obtention du dipeptide **274** avec 86% de rendement (**Schéma 87**).

**Schéma 87**

¹⁶⁷ T. Furutani, M. Furui, *Biotechnology Lett.* **1999** 21, 1101-1105.

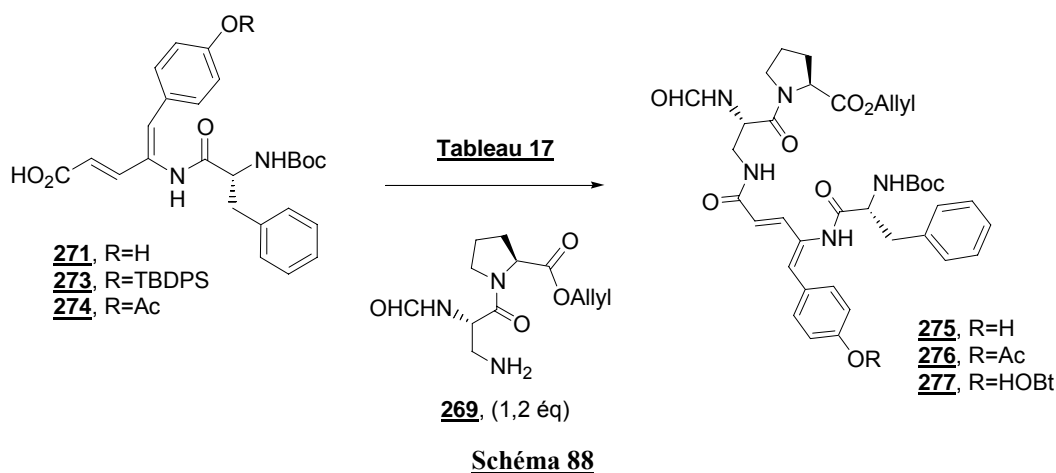
Nous avons ainsi synthétisé deux dipeptides acide, les composés **273** et **274** différemment protégés au niveau du phénol du résidu V- Δ Tyr et un dipeptide acide **271** ayant un phénol libre.

IV.3.3. Obtention du nucléophile térapeptide

Des essais d'obtention du térapeptide *N*-Boc-*D*-Phe-V- Δ Tyr-*N* ^{α} -CHO-Dpr-Pro-OAllyl **111** ont été réalisés à partir de **271**, **273** et **274** par couplage avec le dipeptide **269** (**Schéma 88, Tableau 17**).

Comme nous venons de voir (**Figure 40**), le système totalement conjugué ($\alpha,\beta,\delta,\gamma$ -insaturé) du motif V- Δ Tyr subit probablement un effet push-pull qui influence la réactivité de l'acide carboxylique en diminuant son caractère électro-attracteur.

Or la littérature pour de tels couplages est réduite et ne présente que des couplages d'acides α,β -insaturés (de type acrylique) avec des réactifs de couplage variés et en général assez puissants pour réaliser l'activation de l'acide : (DCC/HOBt)¹⁶⁸, (BOP/ *i*-Pr₂NEt)¹⁶⁹, et (PyBrop/ *i*-Pr₂NEt)¹⁷⁰, (BOPCl/ *i*-Pr₂NEt)^{171,172} et (DPPCl/ *i*-Pr₂NEt)¹⁷³.



¹⁶⁸ Y.-S. Jung, T.-S. Kang, J.-H. Yoon, B.-Y. Joe, H.-J. Lim, C.-M. Seong, W.-K. Park, J.-Y. Kong, J. Cho, N.-S. Park, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 2599-2602.

¹⁶⁹ J. M. Brunel, C. S. Salmi, Y. Letourneux, *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 217-220.

¹⁷⁰ S.-H. Park, S.-H. Kang, S.-H. Lim, H.-S. Oh, K.-H. Lee, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 3455-3459.

¹⁷¹ M. Nazaré, H. Waldmann, *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 3363-3376.

¹⁷² R. Baker, J. L. Castro, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 378-381.

¹⁷³ P. Wipf, T. Kim, P. C. Fritch, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 7195-7203.

Tableau 17. Couplage peptidique des acides $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturés **271, **273** et **274****

| Entrée | Dérivés de D-Phe- V- Δ Tyr | Réactifs | Conditions | Composé isolé | Rdt |
|----------|---|--|--|------------------|------|
| 1 | 271 | DCC (1,2 éq), HOBT (1,2 éq) | CH ₂ Cl ₂ , de 0°C à t.a., 18 h | aucun | - |
| 2 | 271 | EDCi (1,4 éq), HOBT (1,3 éq) | CH ₂ Cl ₂ , activation* à 0°C pdt 10 min, puis 18h à t.a. | 277 ** | 53 % |
| 3 | 273 | EDCi (6 éq), DMAP cat. | CH ₂ Cl ₂ , de 0°C à t.a., 18 h | 275 | 20 % |
| 4 | 271 | PyBrop (1,2 éq), <i>i</i> -Pr ₂ NEt (2 éq) | CH ₂ Cl ₂ , de 0°C à t.a., 24 h | aucun | - |
| 5 | 273 | PyBrop (1,2 éq), <i>i</i> -Pr ₂ NEt (2 éq) | CH ₂ Cl ₂ , de 0°C à t.a., 24 h | aucun | - |
| 6 | 274 | DPPCI (1, 05 éq), <i>i</i> -Pr ₂ NEt (1,05 éq) | THF, activation* à -20 °C pdt 20 min, puis 2 h à t.a. | 276 | 42 % |
| 7 | 271 | DPPCI (1, 05 éq), <i>i</i> -Pr ₂ NEt (1,05 éq) | THF, activation* à -20 °C pdt 20 min, puis de -20 °C à t.a., 24 h | 275 | 80 % |

* activation de l'acide par le réactif de couplage avant addition du partenaire amine **269**.

** Produit identifié par ESI-MS

Nous avons d'abord essayé d'activer les acides **271** et **273** avec les réactifs de couplages standart (DCC, EDCi) pour réaliser le couplage (**Tableau 17**, entrées 1-3), en nous inspirant de la littérature¹⁶⁹. Le seul résultat pertinent obtenu pour le couplage de **273** est l'obtention du produit térapeptide déprotégé sur le phénol **275**, avec un rendement de 20%.

Nous avons donc continué cette étude par l'utilisation de réactif au phosphonium, qui semblait être des réactifs possibles pour réaliser ce type de couplage¹⁷¹, mais aucun produit de couplage n'a pu être isolé à partir des acides **271** et **273** (**Tableau 17**, entrées 4,5).

Dans la littérature on trouve également deux exemples de couplage à l'aide du chlorure de bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)phosphinique (BOPCI) d'acides α,β -insaturés qui selon les auteurs sont très difficile à activer^{172,173}. L'utilisation du BOPCI se fait par une

préactivation de l'acide carboxylique en chlorure d'acide avant d'ajouter dans un deuxième temps l'amine partenaire. Nous avons décidé d'utiliser le chlorure de diphénylphosphoryle (DPPCl), qui est très similaire pour la préactivation des acides carboxyliques^{174a,b}. Ainsi les composés **271** et **274** ont été activés au DPPCl (1,05 éq) avec de la DIPEA, avant l'addition du partenaire dipeptide amine **269**. (**Tableau 17, entrées 6,7**). Les tétrapeptides **276** et **275** ont été obtenus avec des rendements respectifs de 42% et 80%, ce qui est largement meilleur qu'avec les autres systèmes de couplage peptidique, confirmant ainsi que la préactivation de l'acide du résidu V-ΔTyr était nécessaire.

Le couplage à partir du dipeptide déprotégé au niveau du phénol **271** semble satisfaisant (Rdt=80%) et ayant maintenant construit le tétrapeptide **275** autour du résidu sensible V-ΔTyr, nous nous sommes demandé si le phénol devait être reprotégé pour la suite de la synthèse. Nous avons fait le choix de conserver le tétrapeptide **275**, en prenant en compte l'effet push-pull, qui devrait normalement diminuer la nucléophilie de la fonction phénol du résidu V-ΔTyr.

La libération de l'amine du tétrapeptide **275** a été réalisée par traitement avec un mélange TFA-CH₂Cl₂, suivi de l'évaporation de l'acide en excès et d'un ajustement en milieu aqueux du pH à 7 (**Schéma 89**). Un tel traitement a permis l'obtention du tétrapeptide D-Phe-V-ΔTyr-N^α-CHO-Dpr-Pro-OAllyl **277**, comportant une amine et un phénol libre, avec un rendement de 99%. Nous avons ainsi synthétisé notre troisième nucléophile, le tétrapeptide **277**, qui n'était pas notre objectif de départ, en **3 étapes** à partir du dipeptide **256** avec un rendement global de **79%** (**Schéma 89**).

¹⁷⁴ a) D. S. Smith, K. G. Boyd, D. Hopton, R. L. Baxter, R. Ramage, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* **1993**, 551-556; b) I. J. Galpin, A. K. Mohammed, A. Patel, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 1685-1690.

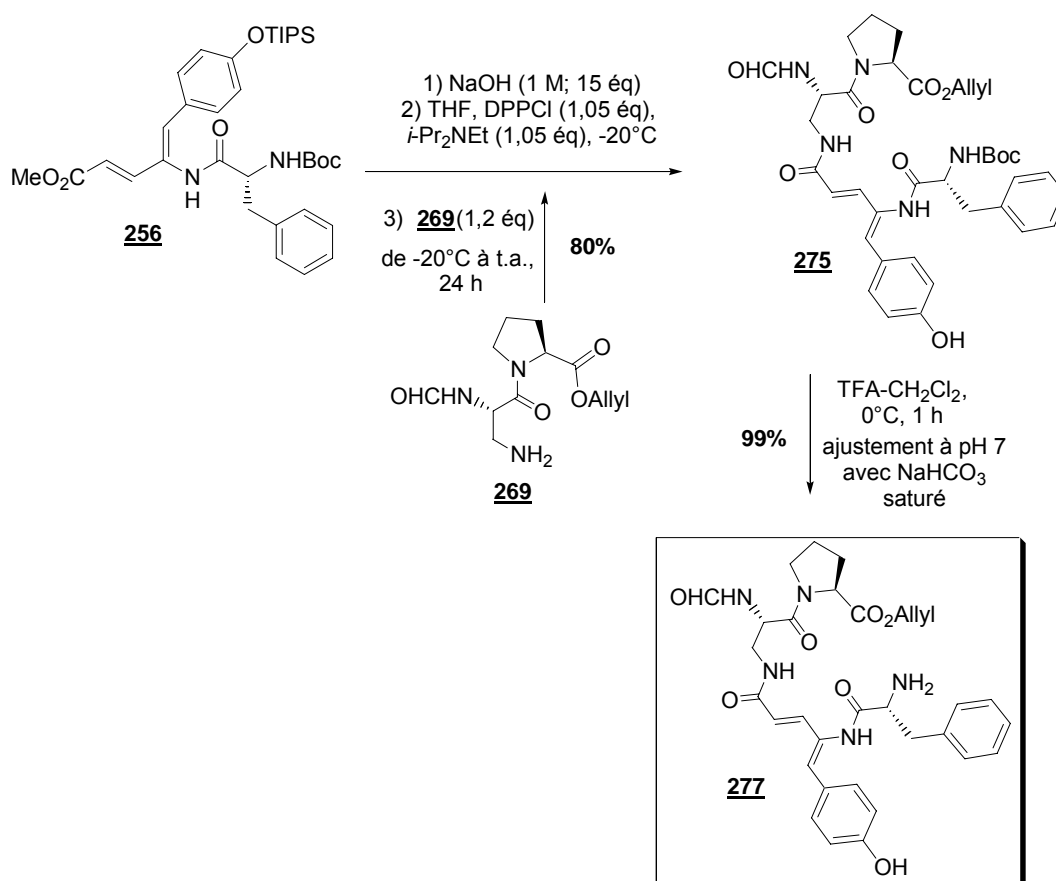


Schéma 89

IV.4. Synthèse du nucléophile dipeptide isonitrile

Dans le chapitre II, lors de notre analyse rétrosynthétique de CtC (section II.1), nous avons proposé une approche via la stratégie « PAM ». La stratégie « PAM » est l'enchaînement d'une réaction de Passerini et d'un réarrangement, pouvant conduire à des structures comportants le motif α -hydroxyamide. Décrite pour la première fois par Passerini en 1921^{53a}, la réaction de Passerini est une RMC à trois composants, combinant un isonitrile (nucléophile), un aldéhyde et un acide carboxylique ou un acide de Lewis.

Dans le cadre de la synthèse du CtC, nous avons identifié le dipeptide isonitrile **153** comme fragment nucléophile approprié (Section IV, **Figure 24**). Dans cette section, nous présenterons sa préparation.

Plusieurs méthodes ont été décrites pour l'obtention des isonitriles¹⁷⁵, et l'une des plus couramment utilisées est la formylation d'une amine primaire suivie de la déshydratation du formamide.

Nous avons dans un premier temps effectué des essais de préparation d'un isonitrile modèle **279** par déshydratation du formamide de l'ester méthylique de la phénylalanine **278** (**Schéma 90**). Ce dernier a été préparé à partir de *N*-Boc-*D*-Phe-OMe commercial par action de TFA, suivi d'une formylation suivant la procédure préalablement décrite (Section III.1.2.d) avec un anhydride mixte acétique-formique avec un rendement quantitatif pour les deux étapes (**Schéma 90**). Ensuite, nous avons testé différents systèmes de déshydratation du formamide **278** en isonitrile **279** : le triphosgène, équivalent synthétique de phosgène, le sel de Burgess¹⁷⁶ et le trichlorure de phosphoryle¹⁷⁷. Nous avons ainsi pu comparer ces méthodes (**Schéma 90**, **Tableau 18**).

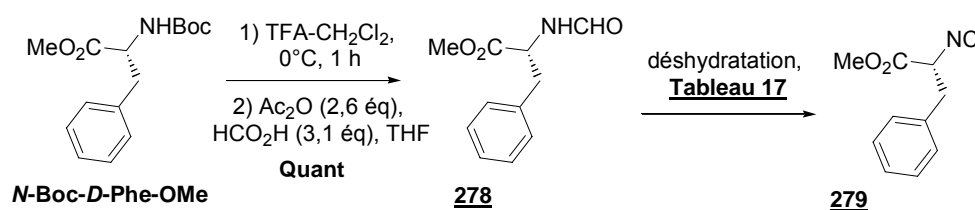


Schéma 90

Tableau 18. Déshydratation du formamide **278** en isonitrile **279**

| Entrée | Systèmes de déshydratation | Conditions | Rdt en 279 |
|--------|--|---|-------------------|
| 1 | Triphosgène (3,36 équ), NEt ₃ (3,3 équ) | CH ₂ Cl ₂ , de 0 °C à t.a., 1,5 h | -* |
| 2 | Sel de Burgess (2 équ) | CH ₂ Cl ₂ , 50 °C, 1 h | 49 |
| 3 | POCl ₃ (1,05 équ), NEt ₃ , (4 équ) | THF, de 0 °C à t.a., 1,5 h | 75 |

* L'isonitrile **279** a été observé, mais n'a jamais pu être purifié correctement.

La déshydratation du résidu **278** à l'aide du sel de Burgess (2 équ) a été efficace, mais l'isolement de l'isonitrile **279** a été difficile (**Tableau 18**, entrée 2). De plus, les réactions menées dans ces conditions ne sont pas très reproductibles. La méthode utilisant le POCl₃

¹⁷⁵ Revue : P. Doz, I. Ugi, U. Fetzter, U. Eholzer, H. Knupfer, K. Offermann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1965**, 4, 472-484.

¹⁷⁶ S. M. Creedon, H. K. Crowley, D. G. McCarthy, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 1015-1017.

¹⁷⁷ G. Cuny, R. Gamez-Montano, J. Zhu, *Tetrahedron* **2004**, 60, 4879-4885.

(1,05 éq) en présence de triéthylamine (4 éq), a permis la préparation du résidu modèle, l'isonitrile *CND*-Phe-OMe **279** avec un rendement de 75% (**Tableau 18**, entrée 3). La littérature ne mentionne pas d'épimérisation du C α des isonitriles dérivés d'acides aminés, obtenus par cette méthode¹⁷⁸.

Ayant retenu cette dernière méthode pour la préparation d'isonitrile, nous avons enchaîné la même séquence réactionnelle à partir du dipeptide **256** (**Schéma 91**). Le dipeptide **256** a été successivement déprotégé par action de TFA dans le CH₂Cl₂, puis formylé par l'anhydride mixte (formique-acétique) pour conduire en deux étapes au dipeptide **280** avec un rendement de 88%. Le protocole utilisant le POCl₃ et triéthylamine a été appliqué sur le formamide dipeptide **280** pour synthétiser l'isonitrile correspondant **153** avec un rendement de 59% (**Schéma 91**).

L'isonitrile *CN-D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **153** a ainsi été préparé avec un rendement de 52% en 3 étapes à partir du dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **256** (**Schéma 91**).

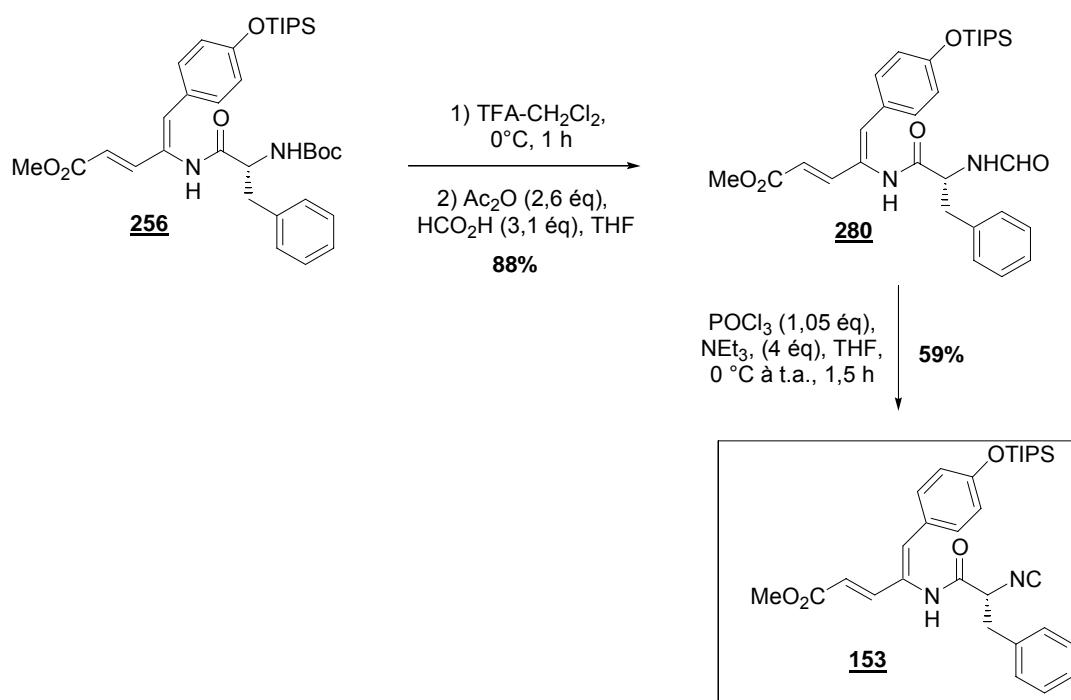


Schéma 91

IV.5. **Bilan synthétique de la préparation des fragments nucléophiles peptidiques**

Pour clôturer ce chapitre, nous ferons ici le bilan des synthèses des différents fragments nucléophiles peptidiques que nous avons envisagés lors de notre analyse rétrosynthétique de CtC (section II.1).

Dans un premier temps, nous avons développé la méthode d'accès au motif Δ Tyr de configuration *Z* dans le dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **231** (**Schéma 92**). Pour cela une étude a été menée, comparant trois approches : les réactions palladocatalysées de Heck et de Suzuki (section IV.1.1) et la réaction de Wadsworth-Emmons (section IV.1.2). Dans chacune de ces approches le motif Δ Tyr a été apporté sur un dipeptide précurseur ; les précurseurs étaient respectivement : le Δ Ala-*D*-Phe **234**, le *Z*- β (bromo)- Δ Ala-*D*-Phe **235** et le α -PO(OMe)₂-Gly-*D*-Phe **236b**. Nous avons appris de cette étude que :

- le couplage de Heck mettant en jeu le dipeptide **234** était défavorable pour des raisons stéréoelectroniques, alors que pour les mêmes raisons, le couplage de Suzuki a été très efficace (76% de rendement).

- ces deux méthodes palladocatalysées avaient été envisagées du fait de leur stéréosélectivité reconnue, ce qui a été confirmée par l'obtention d'un unique diastéréoisomère *Z* du dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **231**.

- la méthode *via* la réaction de Wadsworth-Emmons sur le phosphorylglycine dipeptide **246b** s'est avérée assez stéréosélective (ratio *Z/E* de 97/3) avec un rendement pour le diastéréoisomère *Z* de 73%. Cette méthode est la plus efficace, en terme de rendements et de nombre d'étapes et c'est pour cela que nous l'avons privilégiée pour accéder au dipeptide **231** (**Schéma 86**).

Ensuite nous avons élaboré le résidu clé V - Δ Tyr comportant une double insaturation de configuration *Z* et *E* (**Schéma 92**). Pour cela, nous avons essayé de transformer l'ester **231** en aldéhyde **253** pour le vinyloguer par la suite (section IV.2.1.b) et nous avons aussi essayé de passer par un alcool allylique **254** devant être réoxydé avant vinylogation (section IV.2.1.c). Cette deuxième solution s'est avérée beaucoup plus efficace et nous avons par une séquence de trois étapes : réduction, puis réaction tandem d'oxydation-vinylogation obtenu les dipeptides *N*-Boc-*D*-Phe- V - Δ Tyr(OTIPS)-OMe **256** et *N*-Fmoc-*D*-Phe- V - Δ Tyr(OTIPS)-Ot-Bu **264**, ayant un motif V - Δ Tyr de configuration *Z* et *E* (**Schéma 92**).

Nous avons ainsi synthétisé le premier dipeptide nucléophile *D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **155** en **6 étapes** avec un rendement global de **44%** à partir de la phosphorylglycine *N*-Cbz-(α -PO(OMe)₂)-Gly-OMe **252** commerciale. Nous avons également synthétisé un autre dipeptide nucléophile *D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-*O**t*-Bu **267** orthogonalement protégé du côté C-terminal par rapport à **155**, pour étoffer notre gamme de nucléophiles. Ce deuxième dipeptide nucléophile **267** a été obtenu en **8 étapes**, toujours à partir de **252**, avec un rendement global de **29%** (**Schéma 92**).

Nous avons ensuite préparé le tétrapeptide nucléophile *D*-Phe-V- Δ Tyr-*N* ^{α} -CHO-Dpr-Pro-OAllyl **277** à partir du dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **256** (**Schéma 92**). Lors de l'hydrolyse de l'ester méthylique du résidu V- Δ Tyr, nous avons pris conscience de la réelle singularité de cet aminoacide. En effet, le système totalement conjugué entre le phénol et l'ester du motif V- Δ Tyr subit un effet push-pull, se caractérisant par une faible nucléophilie du phénol, une fragilité du groupement protecteur silylé porté par ce phénol et un carbonyle C-terminal faiblement électrophile. Nous avons tout de même réussi à coupler le dipeptide *N* ^{α} -CHO-Dpr-Pro-OAllyl **269** au niveau du V- Δ Tyr, par un choix judicieux de réactif de couplage (DPPCl) pour obtenir le tétrapeptide **275** avec 80% de rendement. Nous avons donc choisi de préparer le troisième nucléophile sans protection sur le phénol : le tétrapeptide *D*-Phe-V- Δ Tyr-*N* ^{α} -CHO-Dpr-Pro-OAllyl **277** en **9 étapes** à partir de **252** avec un rendement global de **35%** (**Schéma 92**).

Enfin, le dipeptide isonitrile NC-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **153** a été obtenu assez facilement à partir du dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **256**, par une séquence de déprotection-formylation-déshydratation en 3 étapes avec un rendement de 51%. En résumé, l'isonitrile **153** a été préparé en **8 étapes** à partir de la phosphorylglycine **252** avec un bon rendement global de **23%**.

Notons que tous ces fragments nucléophiles peptidiques : les dipeptides amines **155** et **267**, le tétrapeptide amine **277** et le dipeptide isonitrile **153**, doivent être préparés juste avant leur mise en réaction avec les partenaires électrophiles.

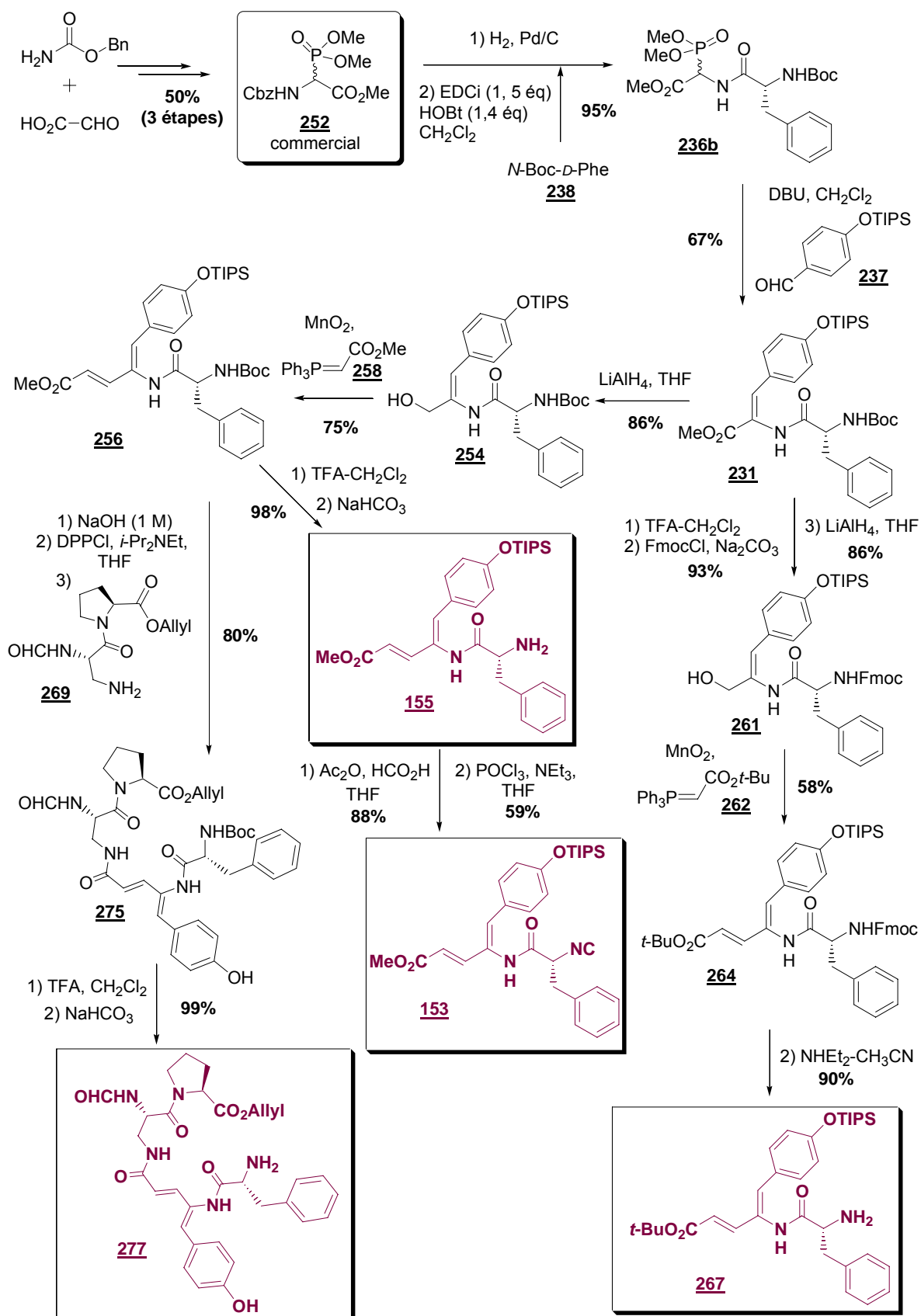


Schéma 92

Chapitre V.
Elaboration des pentapeptides
linéaires
et macrocyclisation

Nous avons décrit dans le Chapitre III la synthèse des différents fragments intermédiaires électrophiles (aldéhydes **152a,b** et **157**) ou précurseurs d'électrophiles (cyanophosphoranes **126** et **159**), ainsi que le réactif MAC **154**, puis dans le Chapitre IV les intermédiaires destinés à jouer le rôle de nucléophiles (amines **155**, **267** et **277** et isonitrile **153**) (**Figure 41**). Dans ce chapitre, nous examinerons les différentes réactions de couplages entre les partenaires pour créer le motif K-Arg (ou H-Arg), selon les stratégies identifiées dans le Chapitre II. Dans un premier temps nous présenterons les résultats obtenus dans les réactions de Passerini suivies d'un transfert de motif acyle, selon la stratégie « PAM », puis nous verrons les réactions impliquant le réactif MAC, et nous terminerons avec les résultats des réactions mettant en jeu les α -cétoacyl cyanures obtenus par ozonolyse des cyanophosphoranes correspondants, stratégie « KAC ».

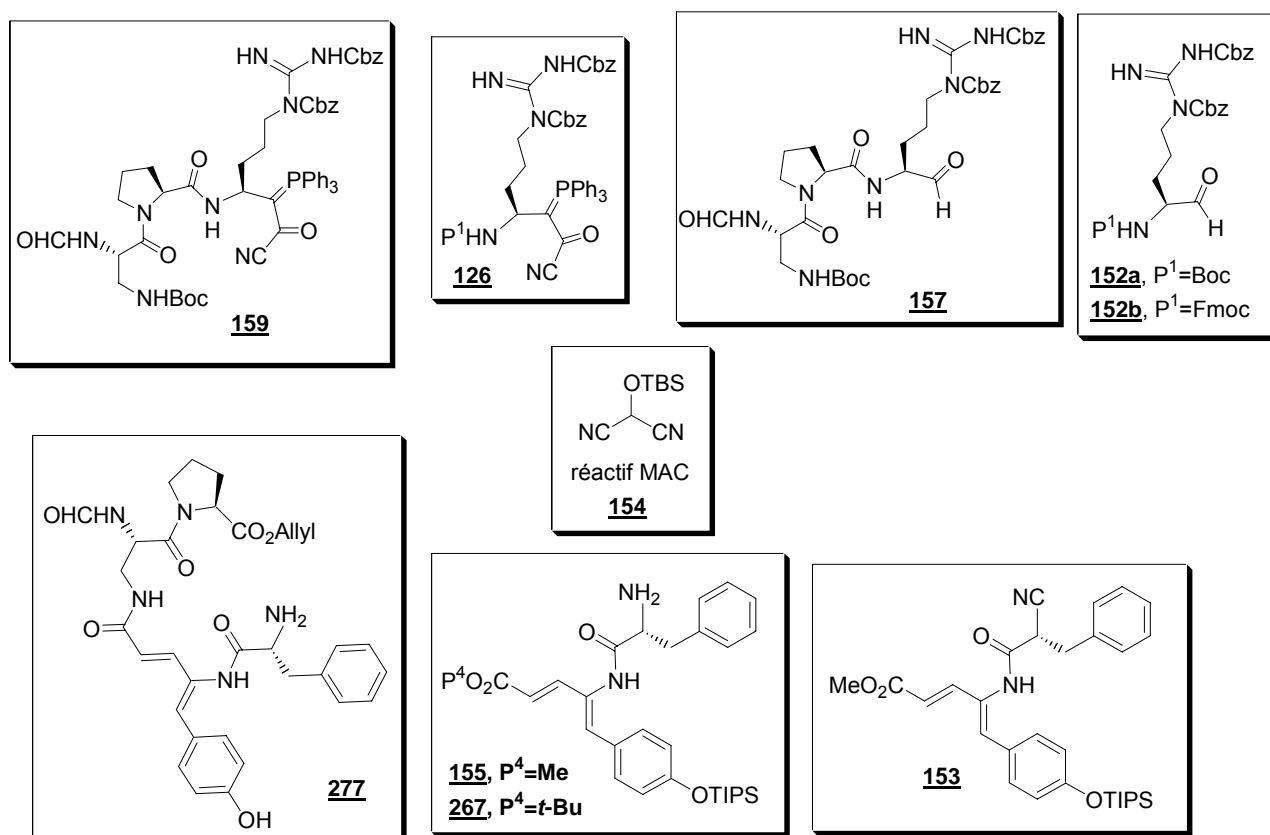


Figure 41. Les différents intermédiaires électrophiles et nucléophiles synthétisés.

V.1. Stratégie « PAM »

Les réactions à multi-composants (RMC) constituent une classe particulière de réactions chimiques, qui mettent en jeu au moins trois réactifs simultanément pour former un produit renfermant tous les atomes des réactifs de départ. Ce sont des réactions très efficaces

du point de vue de l'économie d'atomes. Différentes études ont été menées aussi bien pour comprendre les détails des mécanismes que pour développer la technique afin de synthétiser des molécules d'une grande complexité en une seule étape^{55,56,57,178}. Les types de produits accessibles par une RMC sont bien variés, selon l'identité des réactifs de départ, mais un point commun est repéré, d'être plus efficace en milieu très concentré (0,5-1 M).

La RMC de Passerini (1921) permet l'obtention de molécules de type α -acyloxy-carboxamide, par une réaction entre un aldéhyde, un acide (carboxylique ou de Lewis) et un isonitrile (**Figure 42**)¹⁷⁹. Les isonitriles se prêtent bien à ces RMCs puisqu'ils sont la seule classe de molécules stables comportant un carbone divalent capable de réagir par addition sur un électrophile⁵⁶. Cette RMC, que nous qualifions de type [1+1+1], doit être effectuée dans des conditions assez concentrées pour éviter l'hydratation de l'isonitrile en formamide (**Figure 43**)¹⁸⁰.

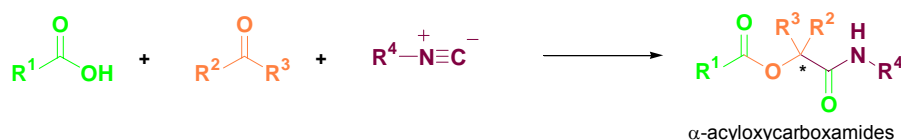


Figure 42. Réaction Multi-Composants de Passerini

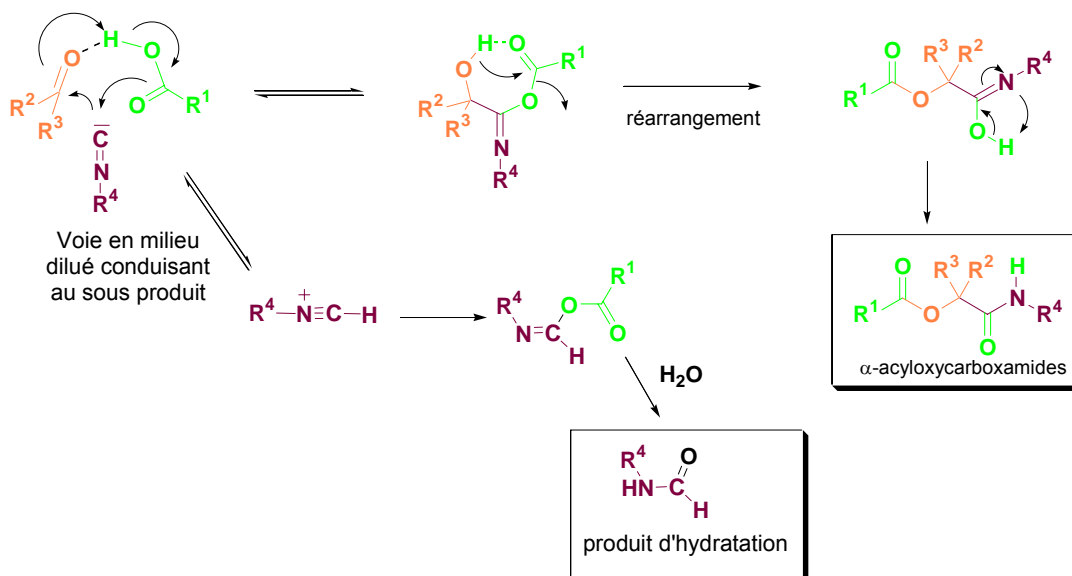


Figure 43. Mécanisme de la RMC de Passerini et de la réaction parasite.

¹⁷⁸ Revue : D. J. Ramon, M. Yus, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 1602-1634.

¹⁷⁹ M. Passerini, *Gazz. Chim. Ital.* **1922**, 52, 250-257.

¹⁸⁰ M. A. Mironov, M. N. Ivantsova, M. I. Tokareva, V. S. Mokrushin, *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 3957-3960.

La réaction de Passerini peut être diversement exploitée et adaptée, permettant l'obtention de différentes structures moléculaires, telles des β -cétoacides¹⁸¹, ou des oxazoles¹⁸².

Nous avons suggéré dans le Chapitre II que la RMC de Passerini pourrait constituer une approche à la synthèse du squelette pentapeptidique de CtC, selon une stratégie « PAM » (Passerini-Acyl-Migration). En effet, l'utilisation de cette stratégie par Semple⁵³, pour la préparation d'un fragment térapeptidique de type Ct comportant le motif α -hydroxyamide, nous a paru très intéressant (Chapitre I, I.5.7). D'autres exemples, rapportés par l'équipe de Banfi¹⁸³, confirment l'intérêt de cette approche pour la synthèse de peptides comportant un motif α -hydroxyamide ou α -cétoamide ; le degré de complexité des composés décrits par cette équipe atteint la taille du térapeptide **284**, obtenu avec un rendement de 35% sur 4 étapes (RMC, déprotection sélective de l'amine protégée sous forme de *tert*-butyl carbamate par l'action de TFA, réarrangement *O,N*-trans-acylation induite par la triéthylamine, et enfin oxydation de l'alcool par le TEMPO) (**Schéma 93**).

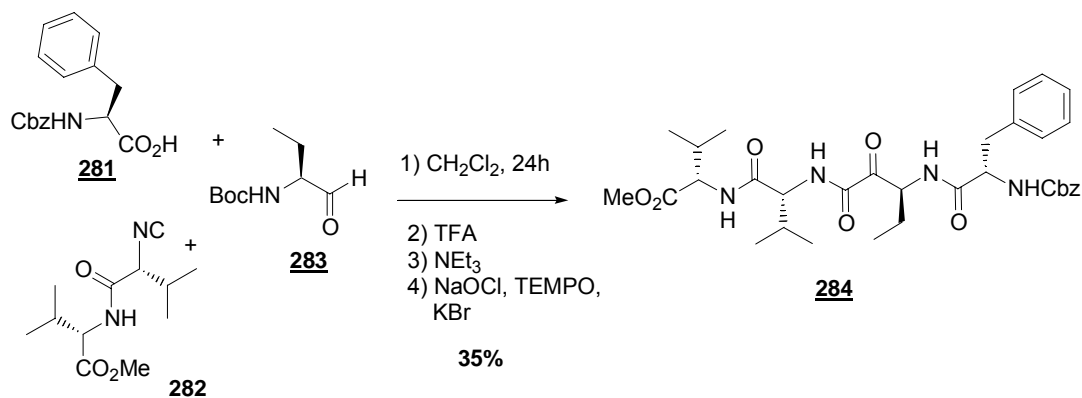


Schéma 93

Dans une analyse rétrosynthétique de CtC selon une stratégie « PAM » (**Figure 44**), nous avons identifié un précurseur pentapeptide linéaire **286**, qui pourrait être obtenu par une séquence : RMC de Passerini de type [2+1+2] mettant en jeu les intermédiaires **152a,b**, **153** et **160** ou **190**, pour conduire à un pentadepsipeptide **285** suivie d'un réarrangement par migration acyle, induite par une base telle la triéthylamine. Le CtC serait préparé par macrocyclisation du pentapeptide **286** puis oxydation et déprotection finale. Selon cette proposition, il n'y aurait pas besoin de contrôler la configuration du nouveau centre

¹⁸¹ A. G. Neo, J. Delgado, C. Polo, S. Marcaccini, C. F. Marcos, *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 23-26.

¹⁸² G. Cuny, R. Gamez-Montano, J. Zhu, *Tetrahedron* **2004**, 60, 4879-4889.

¹⁸³ a) L. Banfi, G. Guanti, R. Riva, A. Basso, E. Calcagno, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 4067-4069; b) L. Banfi, G. Guanti, R. Riva, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **2000**, 985-986.

stéréogène créé lors de la RMC, car l'atome de carbone impliqué est destiné à faire partie du motif cétone dans la structure finale du CtC.

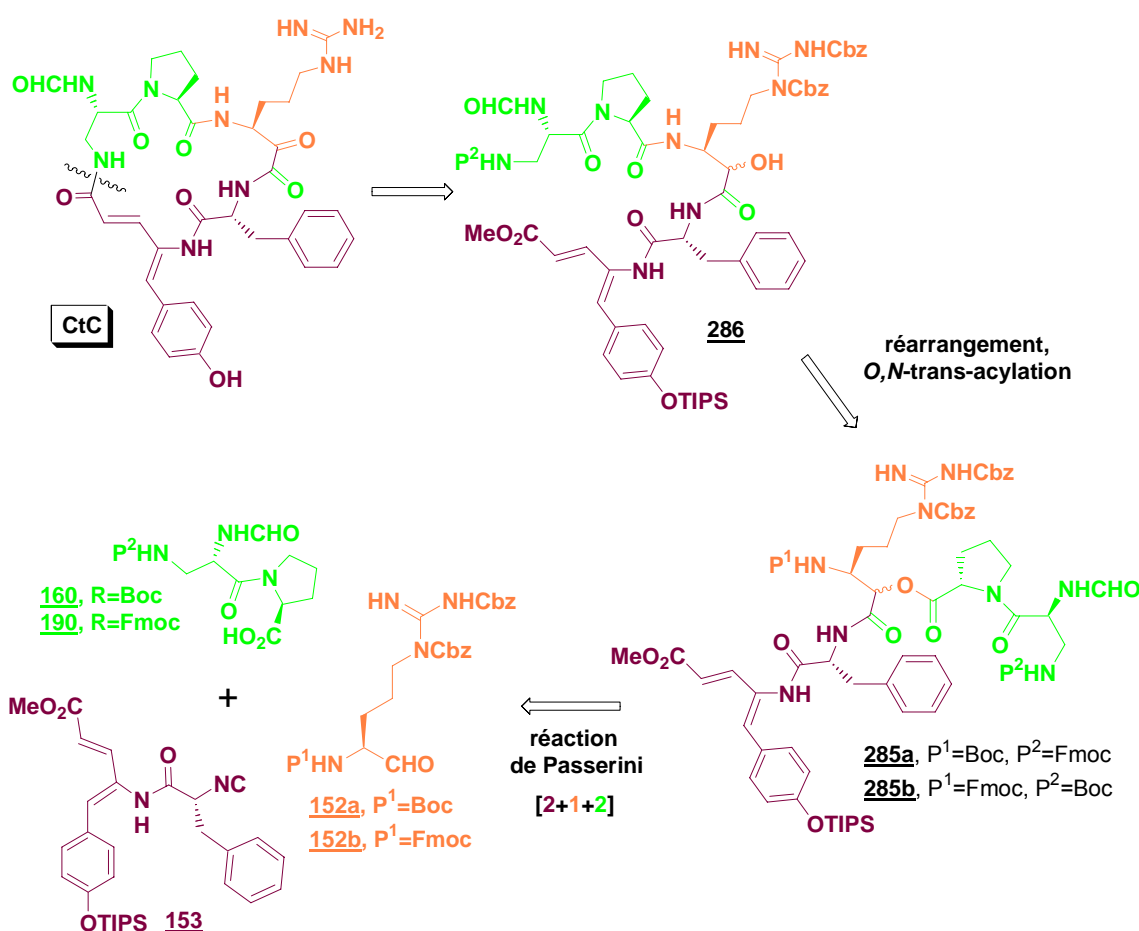


Figure 44. Rétrosynthèse du CtC via la stratégie « PAM »

V.1.1. Réactions de Passerini [1+1+2] sur un système modèle

Nous disposons, depuis le Chapitre IV (section IV.4), d'un isonitrile **279** dérivé de la *D*-Phe. Afin de tester la stratégie « PAM » nous avons commencé nos études avec un modèle simplifié de la réaction de Passerini entre l'isonitrile **279**, l'acide **160** et l'aldéhyde **152a**, qui devrait alors nous conduire à une structure tétrapeptidique **287**.

La RMC modèle [1+1+2] a été conduite à température ambiante dans le CH₂Cl₂ avec quelques gouttes de DMF additionnées pour faciliter la solubilisation de **160**. Après deux jours, nous avons obtenu le tétrapeptide **287** avec un rendement satisfaisant de 55% (**Schéma 94**).

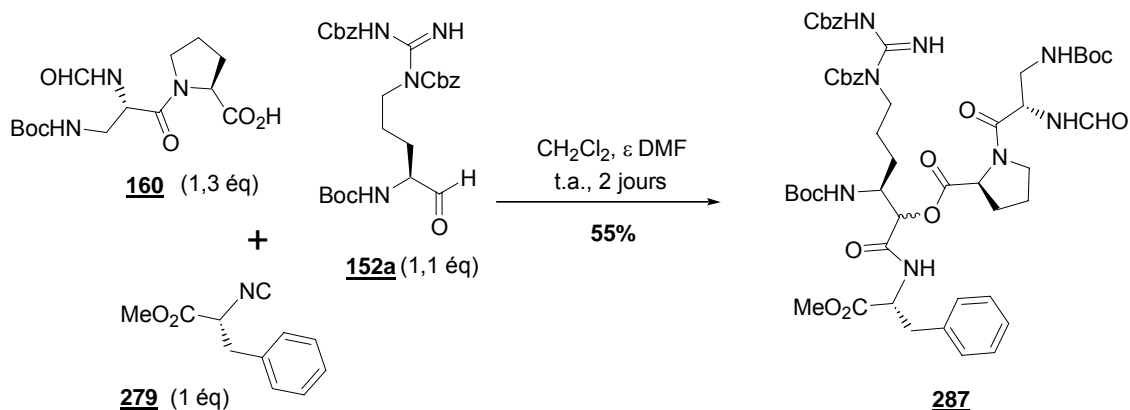


Schéma 94

Le tétrapeptide **287** contient un groupement protecteur Boc sur chacune de ces amines terminales. Cette situation pose une difficulté pour la déprotection sélective de l'amine du motif H-Arg, opération nécessaire pour pouvoir effectuer la *O,N*-trans-acylation sur l'amine désignée. Il est intéressant de noter que les RMC de Passerini décrites dans la littérature sont souvent conduites avec des peptides comportant un groupement Boc sur l'azote ; azote qui dans un deuxième temps est impliqué dans la trans-acylation^{183a,b}. C'est pourquoi nous sommes restés attachés à l'utilisation du dérivé de l'arginine **152a** ainsi protégé (**Schéma 95**). Pour éviter le problème potentiel de déprotection sélective, nous avons changé le partenaire acide **160**, et nous avons utilisé à sa place le dérivé **190** qui contient une protection de l'amine de type Fmoc. Cependant, les résultats de ce changement n'ont pas été très positifs, puisque la RMC de Passerini entre **190**, **279** et **152a** a fourni le tétrapeptide souhaité **288** avec un rendement de seulement 23%. Une partie de l'aldéhyde **152a** non réagi a également été récupéré (28%) (**Schéma 95**).

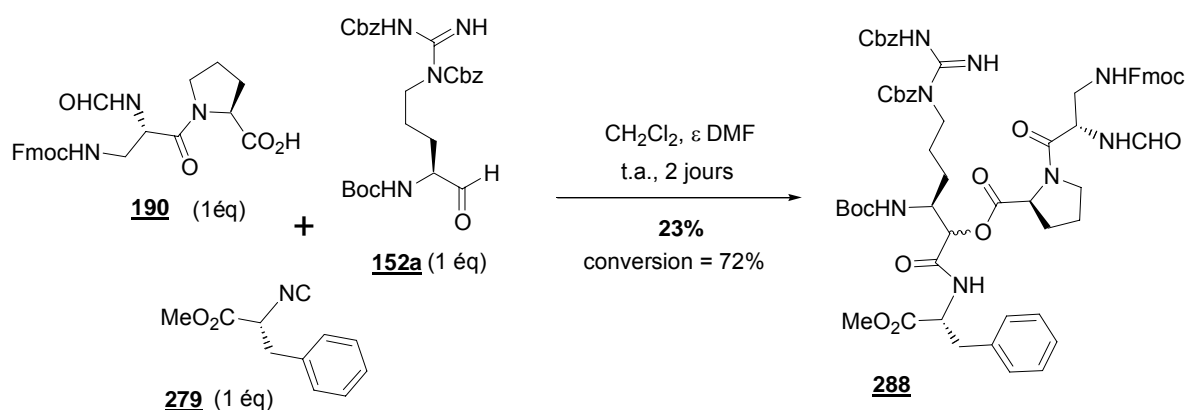


Schéma 95

V.1.2. Obtention du pentadepsipeptide par la réaction de Passerini [2+1+2]

Pour la synthèse d'un pentadepsipeptide par la réaction de Passerini, l'isonitrile dipeptide **153** était engagé ; nous avons à nouveau tenté l'utilisation du dipeptide **190**, qui possède un groupement protecteur Fmoc, orthogonal au groupement protecteur Boc porté par le dérivé de l'argininal **152a**. Les résultats ont été négatifs, puisque le pentapeptide **289** n'a jamais été isolé. Des réactions menées avec des temps de réaction plus longs (jusqu'à une semaine) et des modifications des nombres d'équivalents des différents partenaires n'ont pas remédié cet échec (**Schéma 96**).

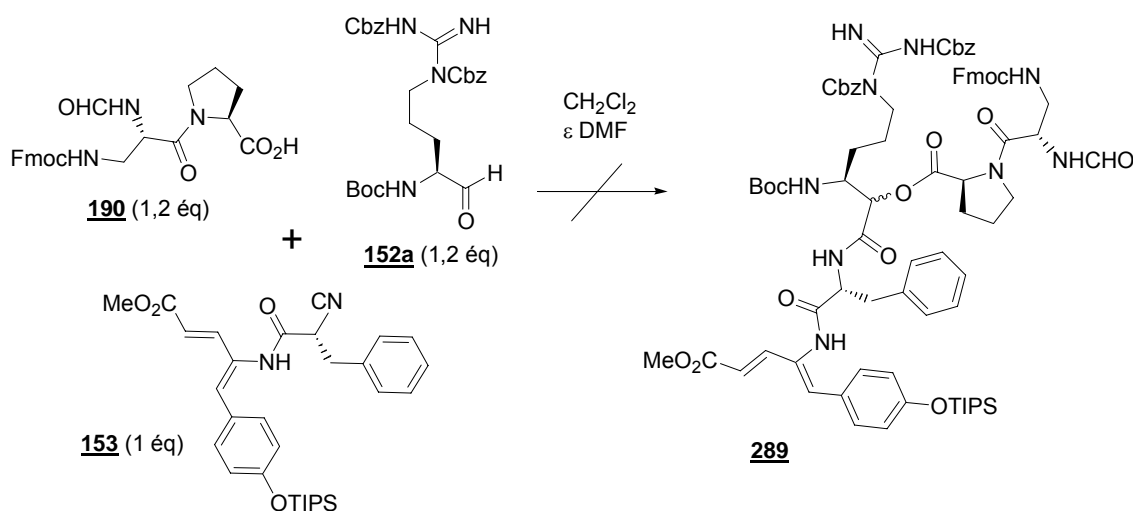


Schéma 96

Les deux résultats décevants concernant des depsipeptides **288** et **289** (**Schémas 95 et 96**) nous ont fait conclure qu'il y avait une incompatibilité du groupement protecteur Fmoc présent sur le dipeptide acide **190** avec la réaction de Passerini. Pour pouvoir obtenir un depsipeptide toujours protégé orthogonalement sur les amines des motifs Arg et Dpr, nous avons décidé d'inverser les positions des groupements protecteurs Fmoc et Boc sur les partenaires réactifs. Nous avons ainsi effectué une RMC de Passerini entre le dipeptide **160**, l'argininal **152b** et l'isonitrile **153** (**Schéma 97**). Le pentadepsipeptide **290** a été isolé dans ce cas avec un rendement satisfaisant : **53-57%** selon le nombre d'équivalents des réactifs engagés (**Schéma 97**, **Tableau 19**).

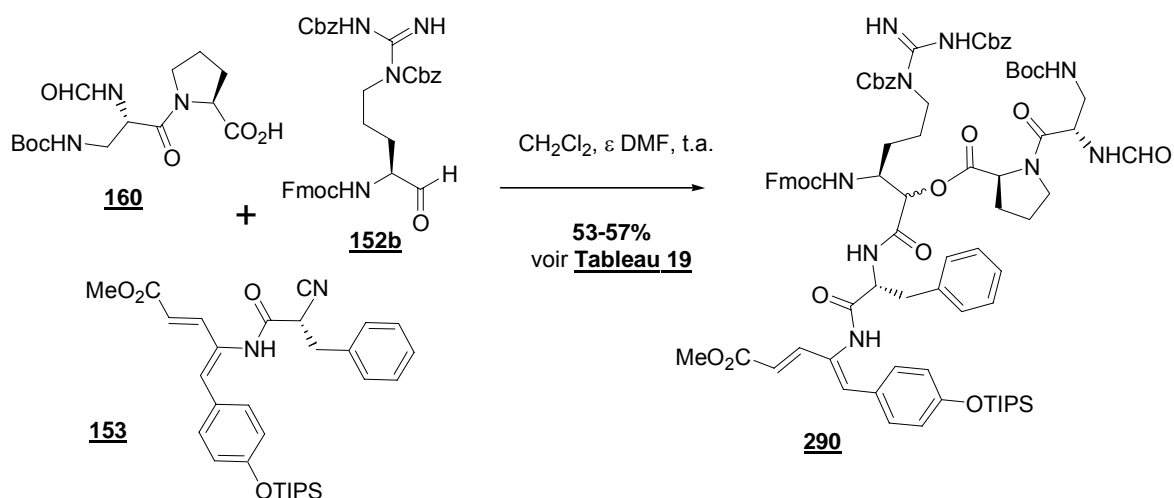


Schéma 97

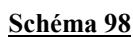
Tableau 19. Conditions de la réaction de Passerini :

| isonitrile 153 | aldéhyde 152b | acide 160 | temps | Rdt* en 290 |
|-----------------------|----------------------|------------------|------------------|--------------------|
| 1 éq | 2,25 éq | 2,25 éq | 48 h | 53% |
| 1 éq | 1,2 éq | 1,2 éq | 4 jours | 57% |
| 1 éq | 1 éq | 1 éq | 3.5 jours | 57% |

*rendement par rapport à l'isonitrile **153**.

V.1.3. Obtention du pentapeptide linéaire par *O,N*-trans-acylation

Avec le pentadepsipeptide orthogonalement protégé **290** en main, nous avons étudié la deuxième opération de la stratégie « PAM », la *O,N*-trans-acylation. Contrairement à ce que nous avons envisagé initialement, c'était maintenant une amine protégée par un groupement Fmoc qui était impliquée dans le réarrangement. A priori, ceci pourrait constituer un avantage par rapport à notre idée initiale (et par rapport aux travaux décrits précédemment), dans la mesure où les deux étapes de déprotection et de réarrangement pourraient éventuellement être effectuées par l'action d'un seul réactif, la diéthylamine. Le réactif habituellement utilisé pour la *O,N*-trans-acylation est la triéthylamine (**Schémas 17, 93**). Nous avons néanmoins décidé de réaliser la transformation de **290** en deux temps ; nous avons d'abord déprotégé sélectivement le *N*-terminal, par l'action de la diéthylamine pendant 30 minutes, pour donner un produit avec un rendement de 45% après purification chromatographique. Nous lui avons attribué la structure pentadepsipeptide-amine **291** (**Schéma 98**). Nous avons traité ce composé avec la triéthylamine, en principe pour effectuer



Pour obtenir un pentapeptide tel **292** de façon plus aisée, nous imaginons aussi développer une nouvelle RMC de Passerini, que nous qualifions de type [2+3+0], dans laquelle le réactif acide n'apporte aucun constituant aminoacide (par exemple : l'acide

acétique). En effet, cela supprimerait l'étape de réarrangement par *O,N*-transacylation, et fournirait directement le pentapetide linéaire **293**, dérivé ester du composé **292** (**Schéma 99**).

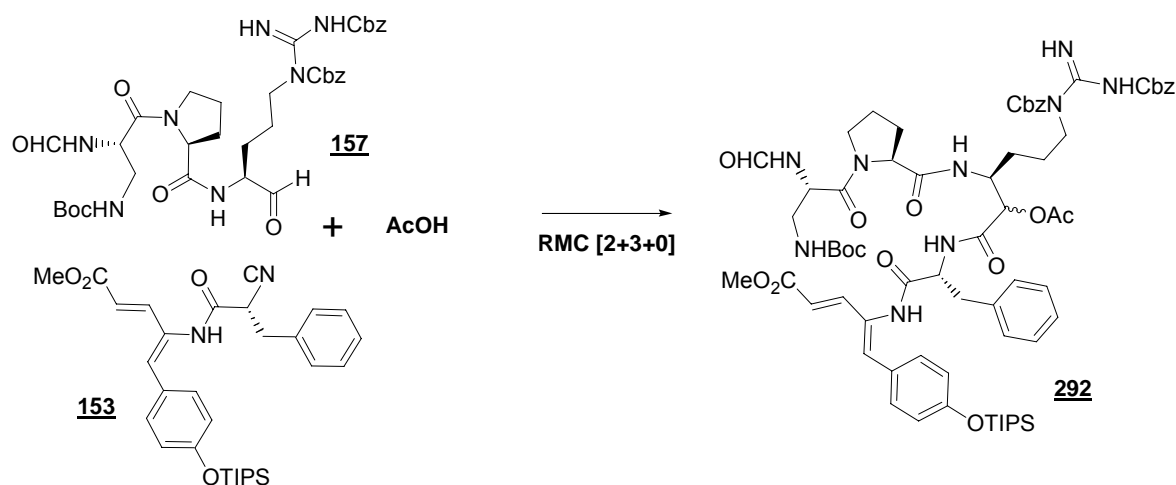


Schéma 99

V.2. Stratégie « MAC »

La méthodologie « MAC » (Masked Acyl Cyanide), fondée sur la réactivité d'un α -(silyloxy)malononitrile, a été développée par Nemoto durant ces dix dernières années. En effet, l' α -(*tert*-butyldimethylsilyloxy)malonodinitrile **154**, appelé le réactif MAC, est un réactif de type umpolung, qui réagit dans un solvant aprotique (éther ou acétonitrile) d'abord en tant que nucléophile (après déprotonation) avec un autre réactif électrophile pour générer *in situ* un cyanure d'acyle **293**, un électrophile puissant, qui réagit ensuite avec un nucléophile par addition-élimination pour fournir un produit carbonylé **294** (**Figure 45**).

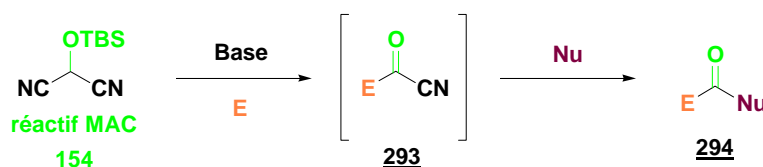


Figure 45. Réactivité du réactif MAC

L'anion du réactif MAC réagit avec divers électrophiles : des halogénures, des carbonates, des dérivés carbonylés α,β -insaturés et des imines, mais sa réactivité sur les aldéhydes nous a particulièrement intéressés (**Schéma 100**)^{54a,b}. En effet, lorsqu'un α -aminoaldéhyde, un nucléophile simple (alcool) et le réactif MAC sont mis en réaction ensemble en présence d'une base, il est supposé que l'anion du réactif MAC s'additionne sur

le carbonyle de l' α -aminoaldéhyde, et l'anion intermédiaire évolue par un transfert du groupement silylé et l'élimination de cyanure, pour générer un α -(silyloxy)acyl cyanure **295** (**Schéma 100**). Ce dernier, espèce électrophile, réagit aussitôt avec le nucléophile alcool pour donner le produit α -silyloxy- β -aminoester **296** (**Schéma 100**)¹⁸⁴.

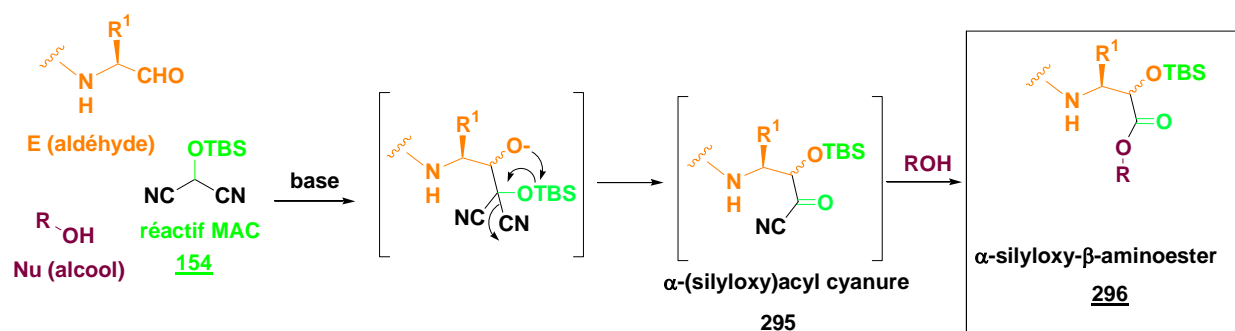


Schéma 100

Dans une application de la réaction MAC présentée ci-dessus, Nemoto a décrit la réaction de **154** avec le benzyl carbamate de phénylalaninal **297** et l'ester benzylique de la leucine **298** pour obtenir le dipeptide **299**, sous forme de mélange de diastéréoisomères. Après séparation de ceux-ci, l'isomère approprié a été transformé aisément en (-)-bestatin **300** (**Schéma 101**)¹⁸⁴.

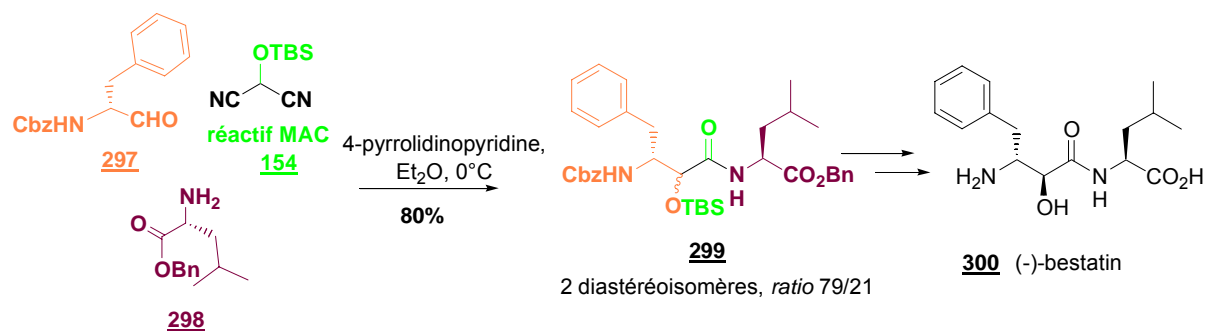


Schéma 101

À ce jour, la réaction MAC n'a jamais été utilisée pour préparer des structures peptidiques plus complexes que le dipeptide **299**. Il est donc très intéressant d'étendre cette méthodologie à la synthèse de tri-, tétra- et pentapeptides contenant le motif α -silyloxy- β -aminoamide, et en particulier, à la préparation d'un pentapeptide approprié pour la synthèse de CtC.

¹⁸⁴ H. Nemoto, R. Ma, X. Li, I. Suzuki, M. Shibuya, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 2145-2147.

Dans ce contexte, nous désignons une réaction MAC de type $[x+y]$, où x est le nombre de résidus d'acides aminés apportés dans le motif nucléophile **amine**, et y est le nombre de motifs acides aminés présents dans le partenaire **aldéhyde**. Selon cette nomenclature, l'exemple de Nemoto illustré sur le **Schéma 101** est une réaction MAC $[1+1]$.

V.2.1. Réaction MAC modèle $[1+1]$

Pour les premières démarches avec une stratégie « MAC » nous avons effectué une réaction modèle $[1+1]$ avec les deux motifs acides aminés imbriqués dans l'enchaînement cible de CtC : Arg et Phe. Le premier essai a été réalisé à basse température avec l'ester méthylique de *D*-Phe **301**, l'argininal **152a** et le réactif MAC **154** en présence de 4-pyrrolidinopyridine comme base (**Schéma 102**). Cette réaction nous a effectivement permis l'isolement le dipeptide **302** incorporant le motif escompté (H-Arg protégée), avec un rendement acceptable de 48%.

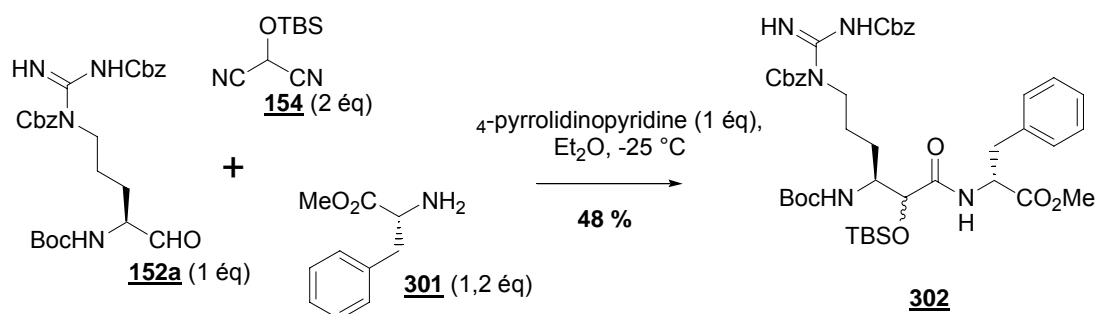


Schéma 102

L'échantillon de **302** présentait un pouvoir rotatoire non nul ; toutefois, à ce stade, les analyses (notamment des spectre de RMN) ne nous permettaient pas de déterminer sa composition diastéréoisomérique. Nemoto a rapporté en 2001 des résultats qui avaient tendance à confirmer qu'une réaction MAC se déroule avec une faible diastéréosélectivité (ratio *syn/anti* typiquement de l'ordre de 80/20 ; $\text{ed} = 60\%$) et surtout qu'il n'y a pas d'épimérisation du carbone- α d'un aminoaldéhyde engagé dans la réaction¹⁶³. Les preuves apportées dans cette publication présentaient toutefois quelques ambiguïtés, et nous avons voulu vérifier dans le cas de la réaction modèle $[1+1]$ (**Schéma 102**) que le motif dérivé de l'arginine n'avait pas été épimérisé au cours de la réaction et, par la même occasion, déterminer l'excès diastéréoisomérique de l'échantillon obtenu (**Figure 46**).

Pour pouvoir remplir ces deux tâches, nous avons refait la même réaction MAC dans les mêmes conditions expérimentales (temps de réaction, solvant et température) avec le mélange racémique de l'argininal (\pm)-**152a** – préparé comme pour **152a** (**Schéma 22** ; Section III.1.1), mais à partir de la (\pm)-Arg – à la place du composé énantiomériquement pur. Le produit **302** a été obtenu avec le même rendement qu'avant, et les échantillons de **302** issus de chacune des deux réactions ont été analysés par LC-MS (colonne phase inverse C₁₈ ; éluant MeOH/H₂O 90/10 : débit 0,3 mL.min⁻¹) en relevant le chromatogramme de l'ion ESI-MS : $m/z = 848$ [MH]⁺ (**Figure 46**).

- La première réaction, conduite sur l'argininal énantiopure **152a**, a donné un chromatogramme sur lequel apparaît deux pics, de temps de rétentions (t_R) de 6,20 et 8,00 minutes, correspondant logiquement aux deux diastéréoisomères (pics bleu et gris : **Figure 46**). Le ratio de **79/21** était comparable avec les observations de Nemoto dans sa synthèse de la (–)-bestatin (**Schéma 102**).

- La deuxième réaction, avec le mélange racémique de l'argininal (\pm)-**152a** a donné le dipeptide **302** sous forme de 4 diastéréoisomères avec un ratio **80/20** pour les diastéréoisomères, deux à deux. L'analyse LC-MS nous permet de distinguer seulement 3 pics dus à ces diastéréoisomères, avec pour la première paire des t_R de 6,20 et de 8,11 min, identiques à la première expérience. La seconde paire de diastéréoisomères comporte un pic avec un t_R de 7,40 min et sans doute un deuxième pic superposé au pic majoritaire à 6,20 min (différence légère des intégrales entre les pics majoritaires vert et bleu).

L'information la plus importante, issue de cette expérience, est la confirmation que la réaction MAC n'a pas engendré d'épimérisation de l'argininal **152a** (**Figure 46**).

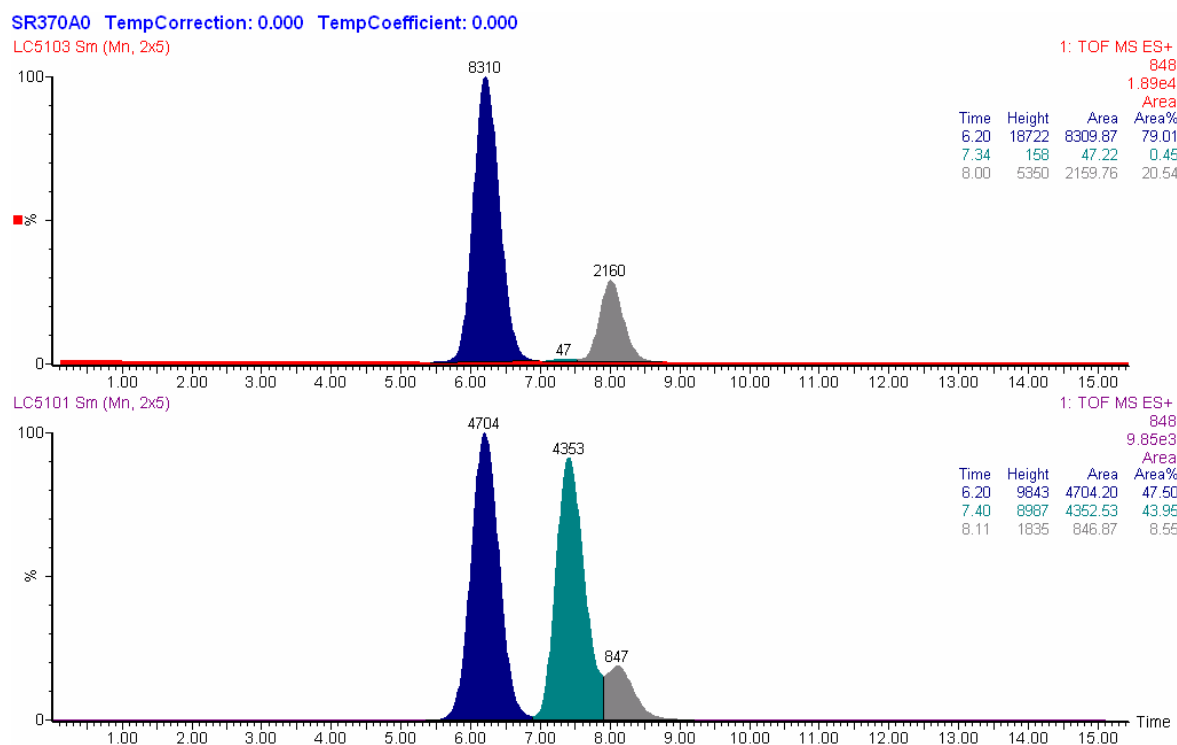


Figure 46. Chromatogrammes LC-MS d'échantillons de 302 obtenus à partir de 152a énantiopure (haut) et de 152a racémique (bas).

V.2.2. Réactions MAC [2+1]

Nous avons ensuite effectué des réactions MAC [2+1], plus élaborées, entre un partenaire nucléophile dipeptidique **267**, un argininal **152a,b** et le réactif MAC **154** (**Schéma 103**). Ces réactions ont été étudiées dans différents solvants polaires aprotiques : éther, THF, ou acétonitrile (**Tableau 20**). Cette étude, non exhaustive, nous a permis d'isoler le produit **303** dans les conditions de la réaction modèle [1+1] avec un rendement similaire de 49% (**Tableau 20, entrée 3**). La réaction a été moins efficace lorsqu'elle a été menée dans l'acétonitrile (**Tableau 20, entrées 1 et 2**). Nous avons aussi synthétisé le produit **304**, cette fois-ci dans le THF, avec un excellent rendement de 70% (**Tableau 20, entrée 4**).

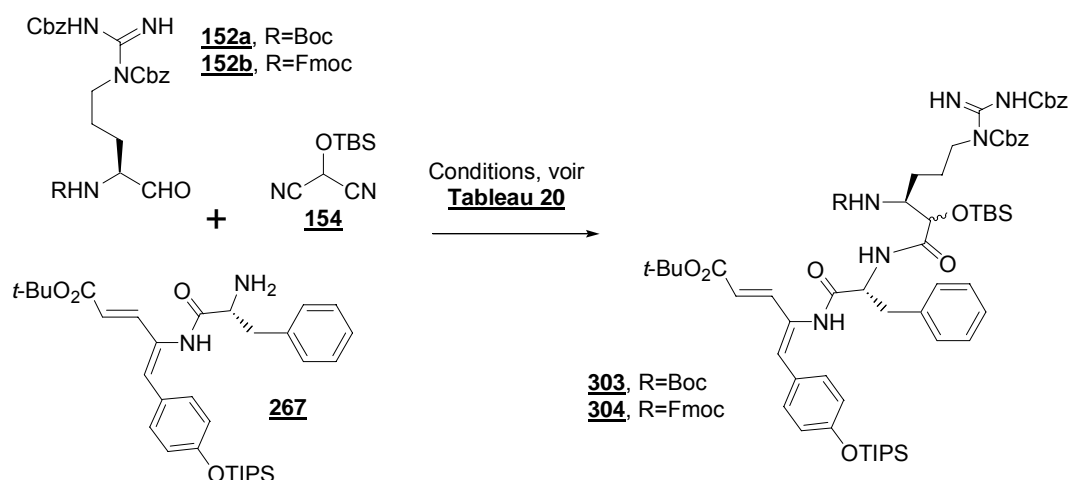


Schéma 103

Tableau 20. Comparaison des différents systèmes lors de la réaction MAC [2+1].

| Entrée | Aldéhydes | Amine <u>267</u> | MAC <u>154</u> | 4-Pyrrolidinopyridine | T°, (Temps) | Solvant | Prod, Rdt |
|----------|-------------------------|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------------|--------------------|------------------|
| <u>1</u> | <u>152a</u> (1,2 éq) | (1 éq) | (2,4 éq) | (1,2 éq) | 0°C (4 h) | CH ₃ CN | <u>303</u> , 0% |
| <u>2</u> | <u>152a</u> (1,2 éq) | (1 éq) | (2,4 éq) | (1,2 éq) | 0°C (24 h) | CH ₃ CN | <u>303</u> , 38% |
| <u>3</u> | <u>152a</u> (1 éq) | (1,2 éq) | (2 éq) | (1 éq) | -25°C (24 h), 0°C (24 h) | Et ₂ O | <u>303</u> , 49% |
| <u>4</u> | <u>152b</u> (1 éq) | (1,2 éq) | (2 éq) | (1 éq) | -25°C (24 h), 0°C (24 h) | THF | <u>304</u> , 70% |

L'objectif suivant a été le couplage des tripeptides 303 et 304 avec des dipeptides appropriés pour accéder aux pentapeptides linéaires, précurseurs du CtC. La déprotection sélective du côté *N*-terminal du tripeptide 303 a été un défi particulier, du fait de la présence simultanée de deux groupements protecteurs *tert*-butyliques (ester et carbamate). Nous l'avons réalisée à l'aide d'acide formique pour obtenir 305, dans une opération assez délicate dû à la formation d'un sous produit après une heure et demie de réaction (**Schéma 104**). Malgré cela, nous avons laissé se dérouler la déprotection sur 2 h, jusqu'à ne plus observer de produit de départ 303, puis nous avons réalisé le couplage de 305 avec le dipeptide 160 utilisant EDCi et HOBt pour conduire à l'isolement du pentapeptide 306 avec un rendement

global de 26%. Ce rendement modeste est dû en grande partie aux difficultés rencontrées lors de l'étape de déprotection (**Schéma 104**).

L'utilisation du tripeptide **304**, était beaucoup plus facile, grâce aux protections orthogonales aux extrémités C et N-terminales. La déprotection sélective du N-terminale a été effectivement réalisée sans problème à l'aide de la diéthylamine dans l'acétonitrile, avec un rendement de 70%. Le couplage de **305** obtenu de cette façon avec le dipeptide **160** utilisant EDCi et HOBt a conduit au pentapetide **306** avec un rendement nettement supérieur de 60% pour les deux étapes (**Schéma 104**).

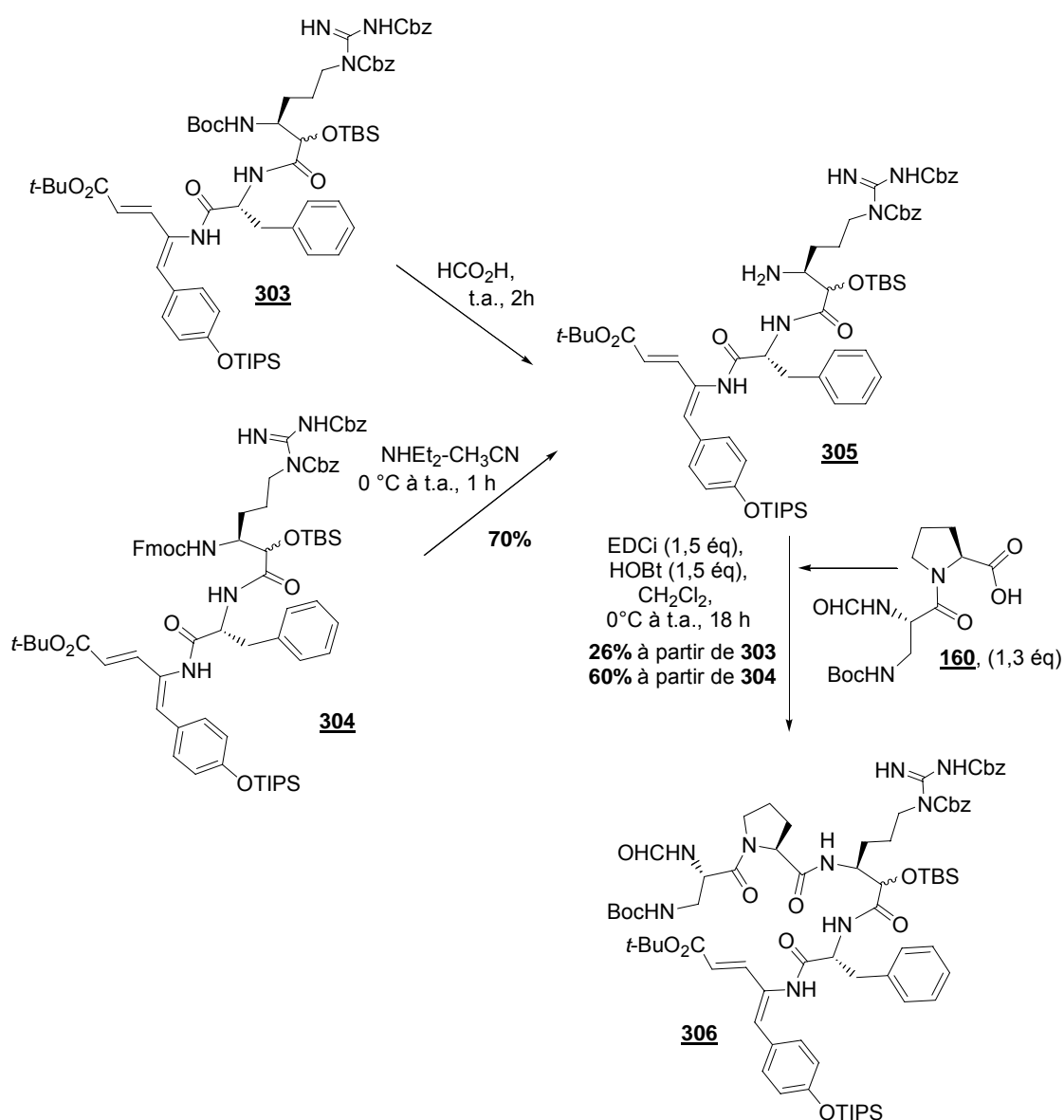


Schéma 104

V.2.3. Réactions MAC [2+3]

Nous avons ensuite augmenté la complexité du système, en essayant d'effectuer une réaction MAC [2+3] en utilisant le tétrapeptide aldéhyde **157**, le dipeptide nucléophile **267** et le réactif MAC **154**, pour conduire directement au pentapeptide N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr-Pro- N^{δ},N^{ϵ} -(Cbz)₂-H-(*O*-TBS)-Arg-*D*-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-*O**t*-Bu **306** (Schéma 105, Tableau 21). Sur trois essais, nous avons trouvé des conditions permettant le déroulement de cette réaction avec un rendement très satisfaisant de 59% (Tableau 21, entrée 2).

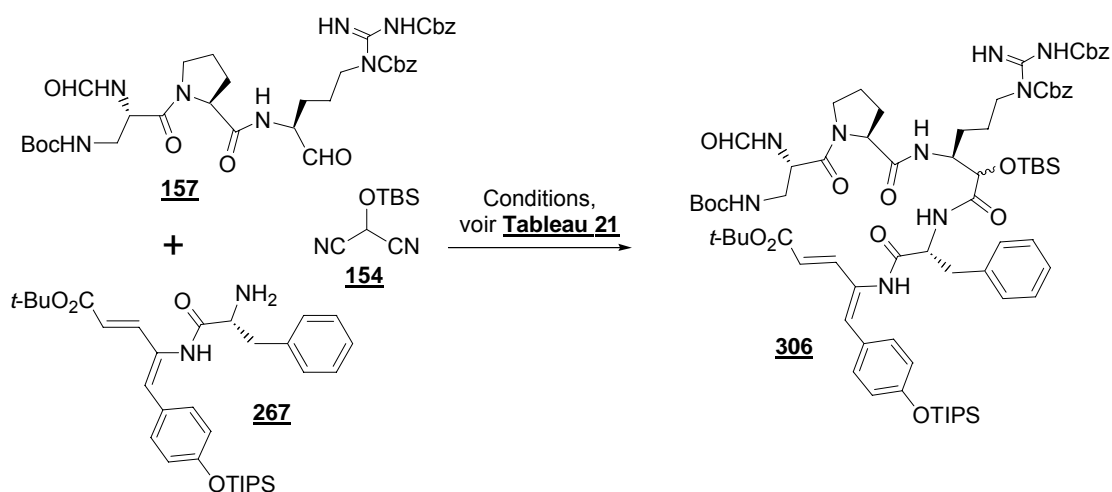


Schéma 105

Tableau 21. Comparaison des différents systèmes lors de la réaction MAC [2+3].

| Entrée | Aldéhyde 157 | Amine 267 | MAC 154 | 4-Pyrrolidino- pyridine | T° (Temps) | Solvant | Rdt en 306 |
|--------|------------------------|---------------------|-------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|----------------------|
| 1 | (1 éq) | (1,2 éq) | (2 éq) | (1 éq) | -25°C (24 h), 0°C (24 h) | Et ₂ O, THF (8/2) | 0%* |
| 2 | (1 éq) | (1,2 éq) | (2 éq) | (1 éq) | 0°C (15 h) | CH ₃ CN | 59% |
| 3 | (1,2 éq) | (1 éq) | (2,4 éq) | (1,2 éq) | -25°C (24 h), 0°C (24 h) | THF | 48% |

* récupération de 33% de l'aldéhyde **157**

Nous avons constaté que, pour la réaction MAC [2+3], les meilleures conditions réactionnelles étaient différentes de celles qui avaient donné les meilleurs résultats pour les

réactions MAC [2+1] et MAC [1+1]. En effet, c'était l'utilisation d'acétonitrile comme solvant qui a permis l'obtention du pentapeptide linéaire **306** avec un rendement de 59%. La synthèse de ce pentapeptide est intéressante, que ce soit par la voie MAC [2+1] puis couplage ou par la voie directe MAC [2+3], car il est protégé de façon similaire aux deux extrémités C et N-terminales par des groupements de type *tert*-butyle, faciles à cliver simultanément par l'action de TFA. De plus, nous notons que les deux voies d'accès au pentapeptide **306** sont assez efficaces (rendements respectifs de 42% et 59%).

V.2.4. Réaction MAC [4+1]

Encouragés par les résultats précédents, nous avons étudié une autre variante de la stratégie « MAC » pour examiner son essor. Nous avons conduit une réaction MAC [4+1] entre le térapeptide amine **277**, l'argininal **152b** et le réactif MAC **154**, pour obtenir le pentapeptide linéaire N^{α} -Fmoc- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz)₂-H-(*O*-TBS)-Arg-*D*-Phe-V- Δ Tyr- N^{α} -CHO-Dpr-Pro-OAllyl **307** avec un rendement de 45% (**Schéma 106**, **Tableau 22**). Nous avons utilisé le THF comme solvant pour cette réaction, pour faciliter la solubilisation des réactifs.

La structure **307** présente les cinq mêmes motifs aminoacides que le pentapeptide **306**, mais dans un ordre différent qui correspond à une position de macrocyclisation différent dans une synthèse totale de CtC (entre Pro et H-(*O*-TBS)-Arg). L'obtention de deux pentapeptides différents par l'application de la stratégie « MAC » montre la grande souplesse de cette approche.

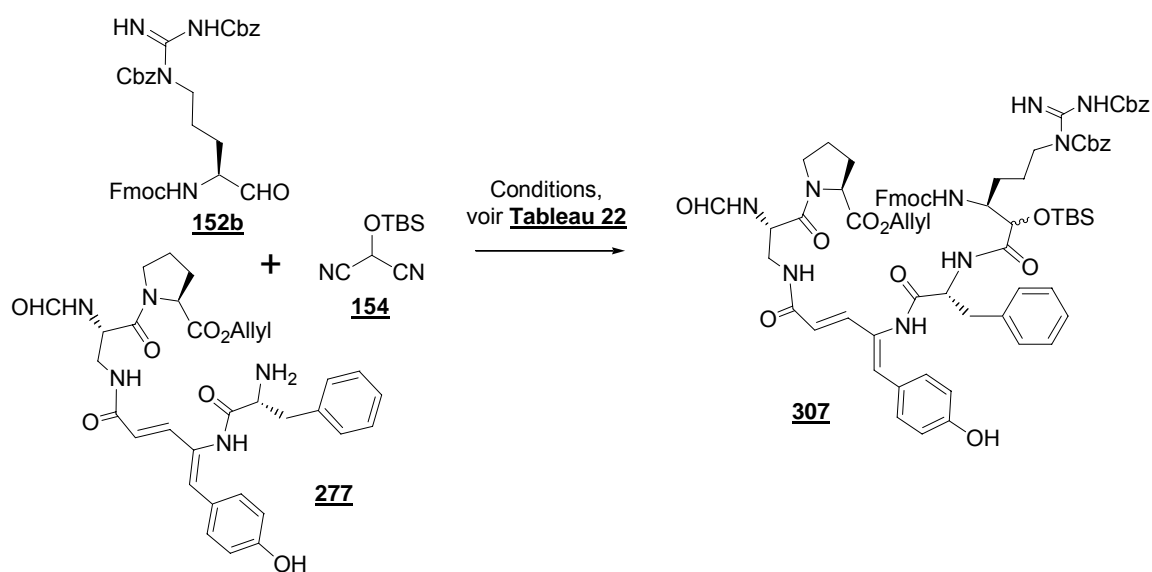


Schéma 106

Tableau 22. Comparaison des différents systèmes lors de la réaction MAC [4+1].

| Aldéhyde <u>152b</u> | Amine <u>277</u> | MAC <u>154</u> | 4-Pyrolidino- pyridine | T°, Temps | Solvant | Rdt en <u>307</u> |
|--------------------------------|----------------------------|-----------------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| (1 éq) | (1,2 éq) | (2 éq) | (1 éq) | -25°C, 24 h 0°C, 24 h | Et ₂ O, THF (8/2) | 36% |
| (1,2 éq) | (1 éq) | (2,4 éq) | (1,2 éq) | -25°C, 24 h 0°C, 24 h | THF | 45% |

V.2.5. Macrocyclisation des pentapeptides linéaires obtenus par réactions MAC [2+3] et [4+1]

Deux pentapeptides linéaires, **306** et **307**, précurseurs de CtC, ont été obtenus par des réactions MAC [2+3] et MAC [4+1]. Quelques étapes de synthèse importantes restaient à faire, à commencer par la macrocyclisation.

V.2.5.a. Rappel bibliographique sur la macrocyclisation

La macrocyclisation de peptides est une réaction de lactamisation quelque peu différente des couplages peptidiques classiques. Le succès de cette réaction dépend de nombreux facteurs et notamment de la taille du cycle formé, de la dilution pour accentuer le facteur entropique, mais aussi de la préorganisation du peptide linéaire.

En effet, Blankenstein et Zhu ont montré dans une revue récente l'importance de la préorganisation des peptides linéaires, par le biais de liaisons faibles intramoléculaires de type hydrogène¹⁸⁵. Cette préorganisation des peptides peut faciliter la macrocyclisation si la conformation induite est favorable. En effet les interactions faibles permettent de rapprocher les deux extrémités C et N-terminales d'un peptide linéaire et ainsi faciliter leur couplage (**Figure 47**).

¹⁸⁵ Revue : J. Blankenstein, J. Zhu, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 1949-1964.

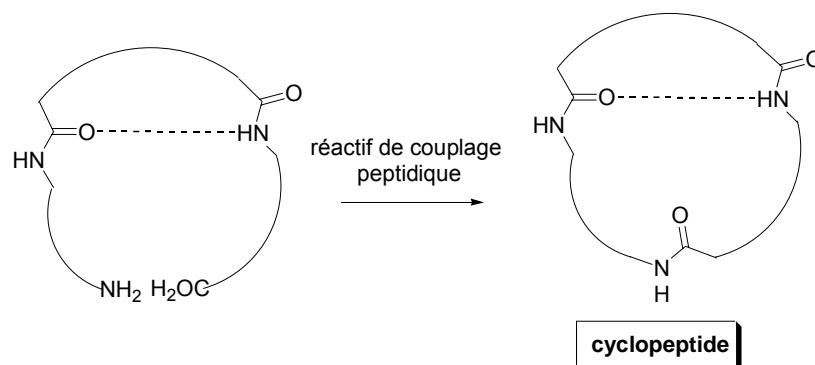


Figure 47. Rôle des liaisons hydrogènes intramoléculaires pour la macrocyclisation de peptides

Ces dernières années une nouvelle approche de la macrocyclisation basée sur ce concept a été envisagée par introduction de bras fonctionnalisés aux deux extrémités *C* et *N*-terminales des peptides. Ces bras (thiol ou phénol) servent à rapprocher les deux partenaires ; ainsi l'acide carboxylique et l'amine des peptides linéaires sont reliés pour donner des macrocycles lactoniques ou thiolactoniques. Ces macrocycles, peu stables, subissent dans un deuxième temps un réarrangement intramoléculaire (cycle à six chaînons) par l'attaque de l'amine conduisant à la création d'une liaison peptidique nettement plus favorable de façon irréversible (libération de thiol ou de phénol) (**Figure 48**)¹⁸⁶. Ce procédé est très efficace pour la synthèse de macrocycle peptidique comportant des aminoacides simples ; en revanche, il peut devenir difficile à mettre en oeuvre si les bras rapprocheurs ne sont pas chimiquement compatibles avec les peptides à cycliser.

¹⁸⁶ Revue : J. S. Davies, *J. Peptide Sci.* **2003**, 9, 471-501.

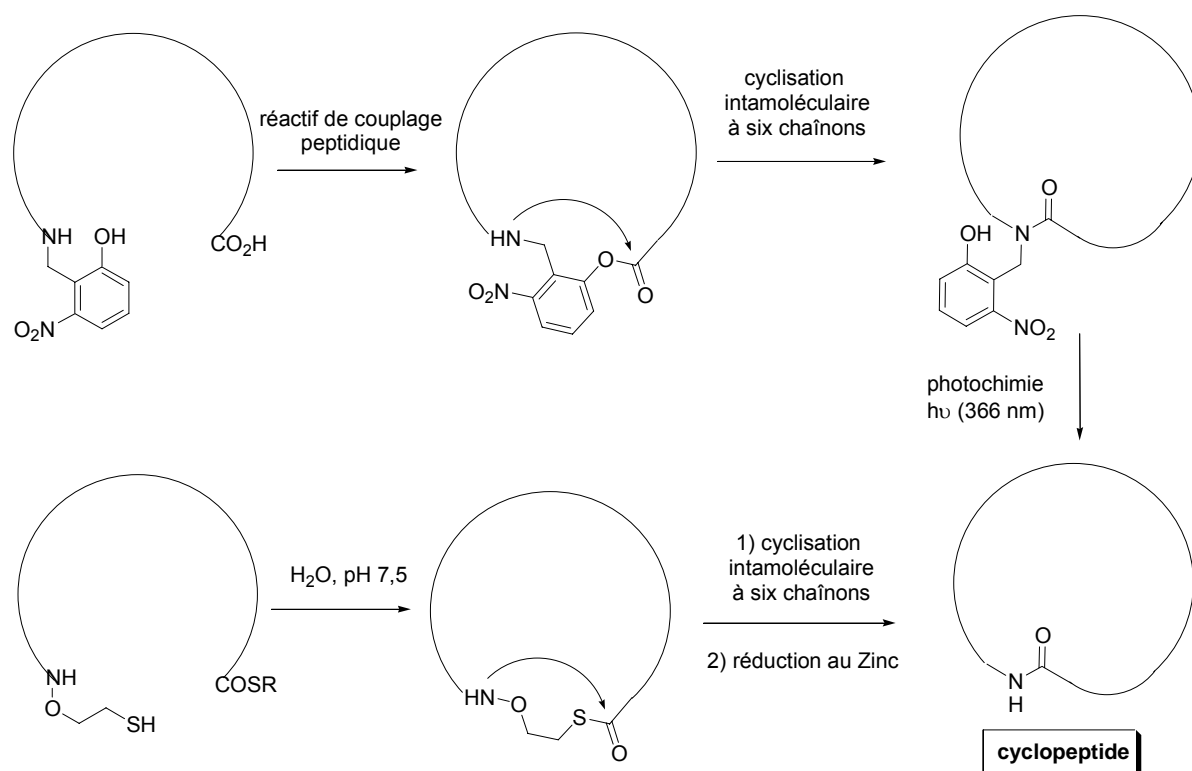


Figure 48. Utilisation de bras rapprocheurs pour la macrocyclisation de peptides

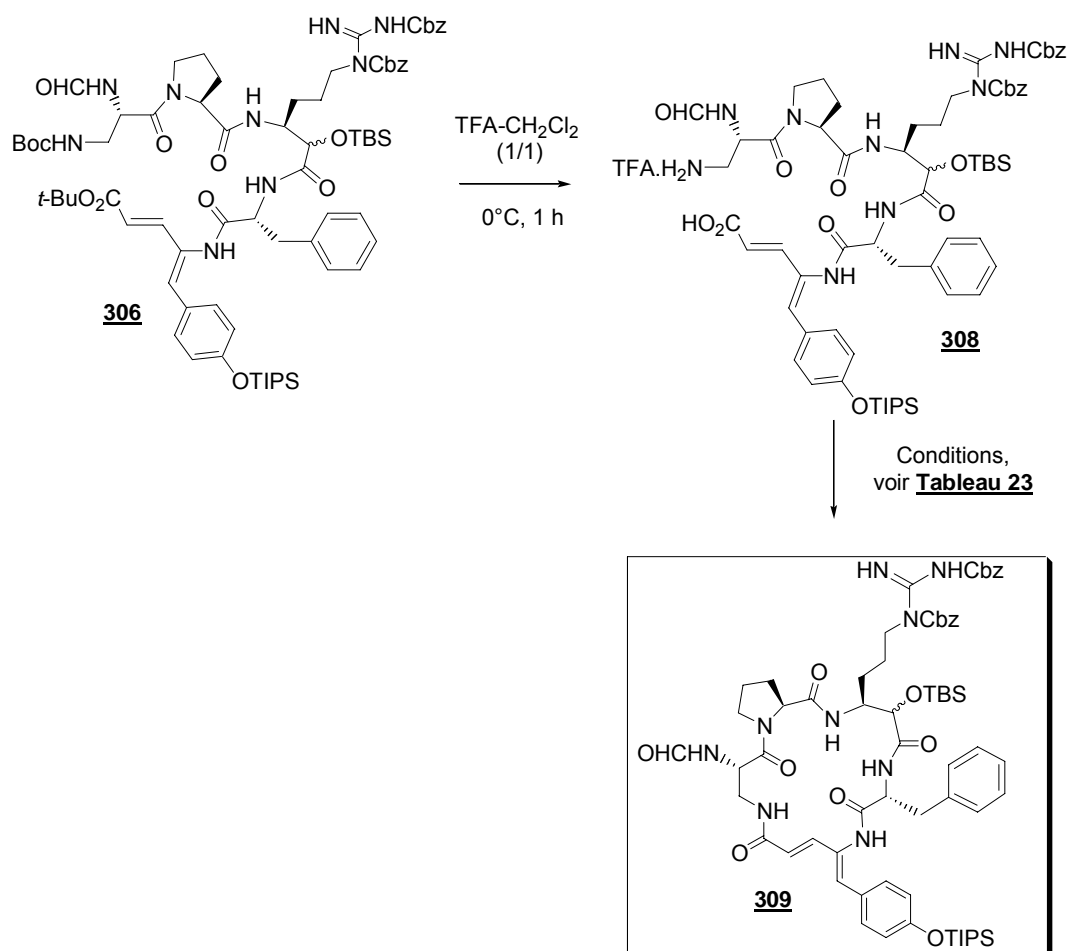
Dans une revue sur la cyclisation, Davies a classé les différentes réactions de macrolactamisation selon la taille de cycle obtenue et ceci pour l'obtention de cyclotriptides jusqu'au cyclodécapeptides. En effet l'auteur montre que la taille du cycle obtenu est un facteur très important pour la réussite de macrocyclisation, mais aussi qu'il n'existe aucun réactif de couplage « universel » pour cette réaction. En regardant de façon plus générale la littérature on remarque tout de même l'inclusion quasi systématique de l'azoture de diphénylphosphoryle (DPPA) dans la liste de réactifs examinés pour une macrocyclisation donnée.

V.2.5.b. Macrolactamisation du pentapeptide linéaire issu de la réaction MAC [2+3]

Les groupements protecteurs des C et N-terminales du pentapeptide linéaire **306** étant tous deux de types *tert*-butyliques, nous les avons clivés simultanément par l'action d'un excès de TFA à température ambiante, obtenant ainsi le pentapeptide linéaire **308**, prêt à être engagé dans une macrocyclisation (**Schéma 107**). Différents essais qualitatifs de macrocyclisation ont été tentés sur de petites quantités (2 mg) de **308** (**Tableau 23, entrées 1-**

5) et des analyses ont été effectuées après 24 h de réaction, afin de savoir quels systèmes de couplage étaient prometteurs (**Schéma 107**, **Tableau 23**). Malheureusement les résultats de cette étude n'ont pas été favorables, car après 24 h, aucun produit de départ n'est observé en CCM et aucune trace du macrocycle **309** n'a été détectée par spectrométrie de masse.

En nous appuyant sur les travaux de la littérature, nous nous sommes intéressés à des réactifs de couplage de type uroniums qui semblent être efficaces lors de macrocyclisations et engendrer peu de racémisation^{187,188}. L'utilisation du tétrafluoroborate de tétraméthyluronium (TBTU) en présence d'une quantité catalytique de HOBT dans un mélange DMF/CH₂Cl₂ nous a permis l'obtention du cyclopentapeptide **309** avec un rendement de 37% (**Tableau 23**, entrée 6).



¹⁸⁷ R. Knorr, A. Trzeciak, W. Bannwarth, D. Gillessen, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 1927-1930.

¹⁸⁸ F. Yokokawa, A. Inaizumi, T. Shioiri, *Tetrahedron* **2005**, 61, 1459-1480.

Tableau 23. Différents systèmes de macrocyclisation de **308.**

| entrée | Système de macrocyclisation | Solvant et concentration | Température, Temps de réaction | Rdt en 309 |
|----------|--|---|--------------------------------|-------------------|
| 1 | DCC (1,2 éq), HOBt (1,1 éq) | DMF (0,01 M) | 0 °C, 24 h | - |
| 2 | DPPA (1,5 éq), NaHCO ₃ (5 éq) | DMF (0,01 M) | 0 °C, 24 h | - |
| 3 | PyBOP (2 éq), DMAP (2 éq) | DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/2), (0,01 M) | t.a., 24 h* | - |
| 4 | HATU (1,3 éq), HOBt (1,2 éq), <i>i</i> -Pr ₂ NEt (2 éq) | DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/2), (0,01 M) | 0 °C, 24 h | - |
| 5 | FDPP (3 éq), <i>i</i> -Pr ₂ NEt (5 éq) | DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/2), (0,01 M) | 0 °C, 24 h | - |
| 6 | TBTU (1, 45 éq), HOBt (0,13 éq), | DMF/CH₂Cl₂ (1/2), (0,01 M) | 0 °C, 24 h | 37% |

* Ajout du pentapeptide **308** sur les réactifs de couplage sur une période de 16h à t.a.

V.2.5.c. Macrolactamisation du pentapeptide linéaire issu de la réaction MAC [4+1]

Pour obtenir le macrocycle pentapeptidique **311** à partir du pentapeptide linéaire **307**, nous nous sommes inspirés de la synthèse de la micropeptine décrite par Shioiri¹⁷¹. Le pentapeptide **307** a été déprotégé en deux temps : d'abord, du côté de l'amine par l'action de la diéthylamine, puis du côté de l'acide par clivage de l'ester allylique à l'aide de tétrakis(triphénylphosphine)palladium et de la morpholine, avec un rendement pour les deux étapes de **88%** (**Schéma 108**)¹⁸⁹. Le pentapeptide libre **310** a été ensuite macrocyclisé à l'aide du diphenylphosphinate de pentafluorophényle (FDPP) en présence de diisopropyléthylamine, passant ainsi par l'intermédiaire ester pentafluorophényle, pour obtenir le cyclopentapeptide **311** avec un rendement de **52%** (**Schéma 108**)¹⁹⁰.

¹⁸⁹ *Revue* : F. Guibé, *Tetrahedron* **1998**, 54, 2967-3042.

¹⁹⁰ S. Chen, J. Xu, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 6711-6714.

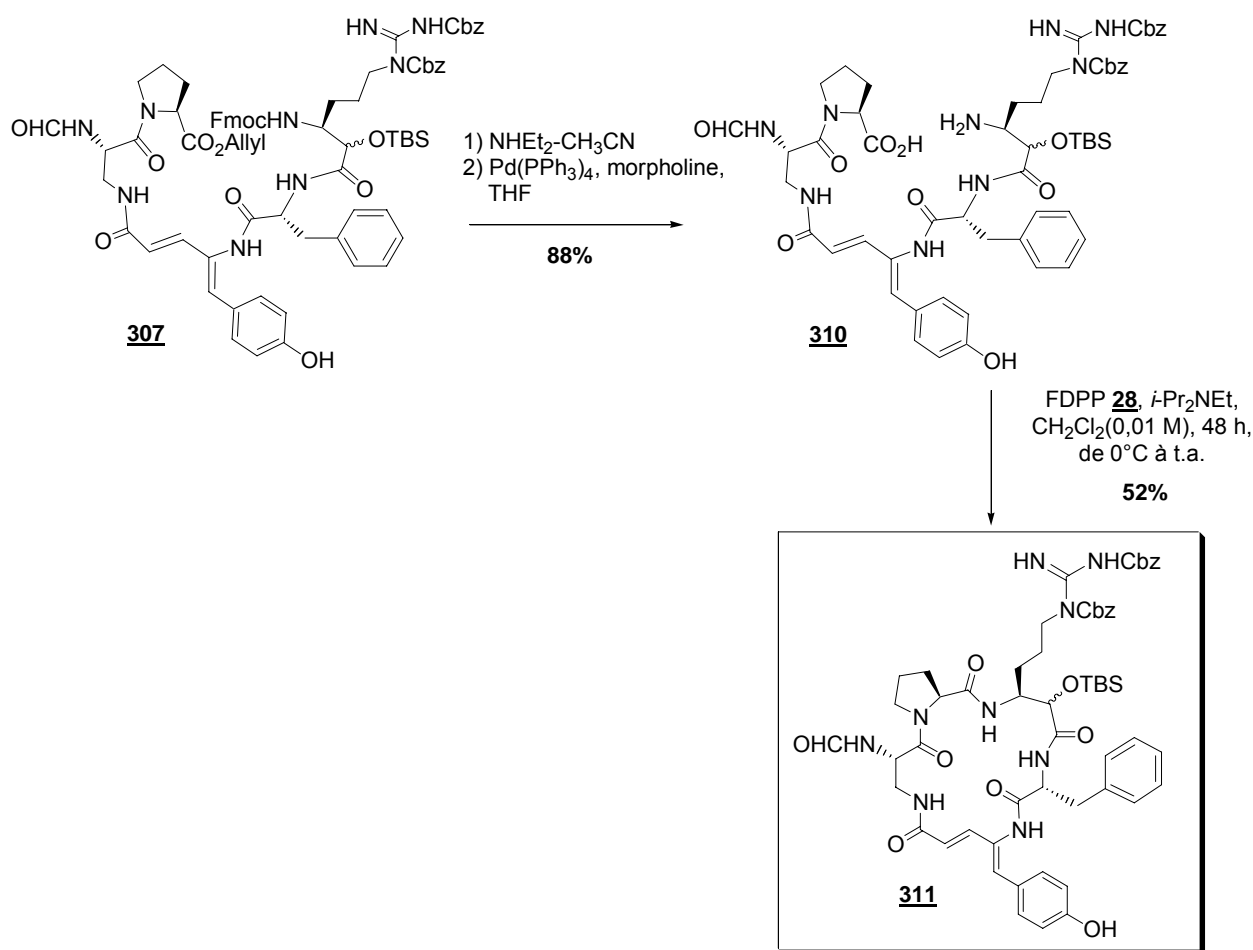


Schéma 108

V.2.6. En route vers le CtC

L'étude des différentes possibilités offertes par les réactions "MAC" [2+1], [2+3] et [4+1], nous a conduit à synthétiser deux cyclopentapeptides : le cyclo[N^α -CHO-Dpr-Pro- N^δ, N^ϵ -(Cbz) $_2$ -H-(O-TBS)-Arg-D-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)] **309** (section V.2.5.b) et le cyclo[N^α -CHO-Dpr-Pro- N^δ, N^ϵ -(Cbz) $_2$ -H-(O-TBS)-Arg-D-Phe-V- Δ Tyr] **311** (section V.2.5.c) (**Schéma 109**). Leurs structures diffèrent uniquement au niveau du phénol du résidu V- Δ Tyr, qui dans un cas est protégé par un groupement TIPS et dans l'autre cas est libre.

Le macrocyle **309** a été préparé à partir du composé précurseur pentapeptidique linéaire **306**, obtenu lui même par les deux stratégies [2+1]+2 et [2+3], avec des rendements respectifs de 42% en 2 étapes et 59% en une seule étape. Malgré la complexité des partenaires peptides aldéhydes et amines engagés, la stratégie convergente [2+3] a donc été plus efficace pour préparer le macrocycle **309** avec un rendement global de 22% en 3 étapes à partir de l'aldéhyde **157**, au lieu de 15,5% pour la synthèse [2+1]+2 en 5 étapes à partir de

l'aldéhyde **152b**. Pour ces deux stratégies, la macrocyclisation a été réalisée entre les résidus Dpr et V- Δ Tyr assez difficilement (37%), alors que Wasserman pour la synthèse des CtE₂ et E₃ avait connu un bien meilleur résultat pour une macrocyclisation Dpr-V-Tyr^{51a,b}. Ceci est sans doute dû à la nature même de l'acide aminé V- Δ Tyr, qui est assez difficile à coupler du côté C-terminal.

Le macrocycle **311** a été préparé par une réaction MAC [4+1], stratégie très convergente, qui a été un défi synthétique du fait de la complexité du partenaire nucléophile **277** mis en jeu. Le macrocycle **311** a ainsi été obtenu avec un rendement global de **21%** en **4 étapes** à partir du térapeptide amine **277**. Nous avons noté que la macrocyclisation entre Pro et Arg pour obtenir le macrocycle **311** s'est avérée plus favorable (52%), que celle étudiée précédemment entre V- Δ Tyr et Dpr (37%) (**Schéma 109**). Ceci est peut-être dû à la présence du groupement *tert*-butyldiméthylsilyle (TBS), qui par son encombrement spatial à proximité du centre de la réaction, faciliterait l'approche de l'amine, favorisant ainsi la macrolactamisation.

Nous soulignons également l'intérêt du tripeptide **304**, obtenu avec un rendement très satisfaisant de 70%. En effet, ce tripeptide pourrait être déprotégé sélectivement du côté C-terminal, puis être couplé avec un dipeptide Dpr-Pro pour conduire au pentapeptide linéaire **306**. Ceci constituerait une nouvelle stratégie « MAC » [2+1]+2 pour accéder au macrocycle **311** (**Schéma 109**). Faute de temps, nous n'avons pas pu développer l'accès au macrocycle **311** par cette voie.

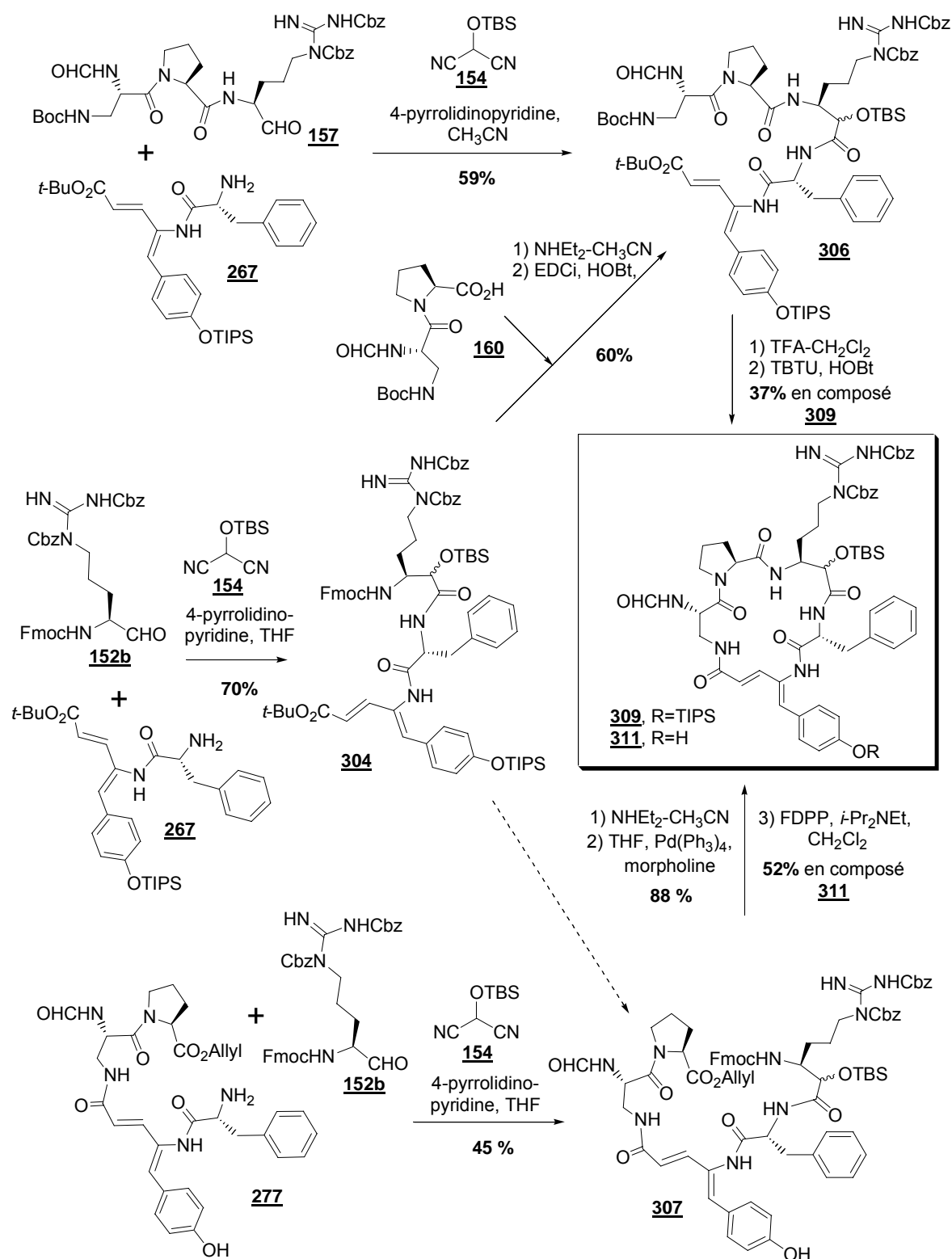


Schéma 109

Les étapes restant à réaliser pour obtenir du CtC, à savoir la déprotection de l'acool du motif H-(O-TBS)-Arg des macrocycles **309** et **311**, puis l'oxydation du résidu H-Arg en K-

Arg et enfin la déprotection finale du macrocycle n'ont pu être menées dans de bonnes conditions.

La déprotection des groupements silylés des macrocycles **309** et **311** a été effectuée en présence de fluorure de tétraméthylammonium (TBAF), relativement facilement avec un rendement en macrocycle **312** de 60% (**Schéma 110**). Par contre, l'étape suivante d'oxydation avec DMP n'a jamais permis l'isolement du macrocycle **313** comportant la fonction α -cétoamide (**Schéma 110**). Nous avons uniquement observé la dégradation totale du macrocycle **312** probablement dû à l'oxydation du phénol du résidu V- Δ Tyr. D'ailleurs, les groupes d'Ottenheijm⁴⁹ et de Maryanoff et Nicolaou⁵⁰ avaient fait mention de cette même difficulté lors des synthèses des CtA et CtB (Sections I.5.4 et I.5.5).

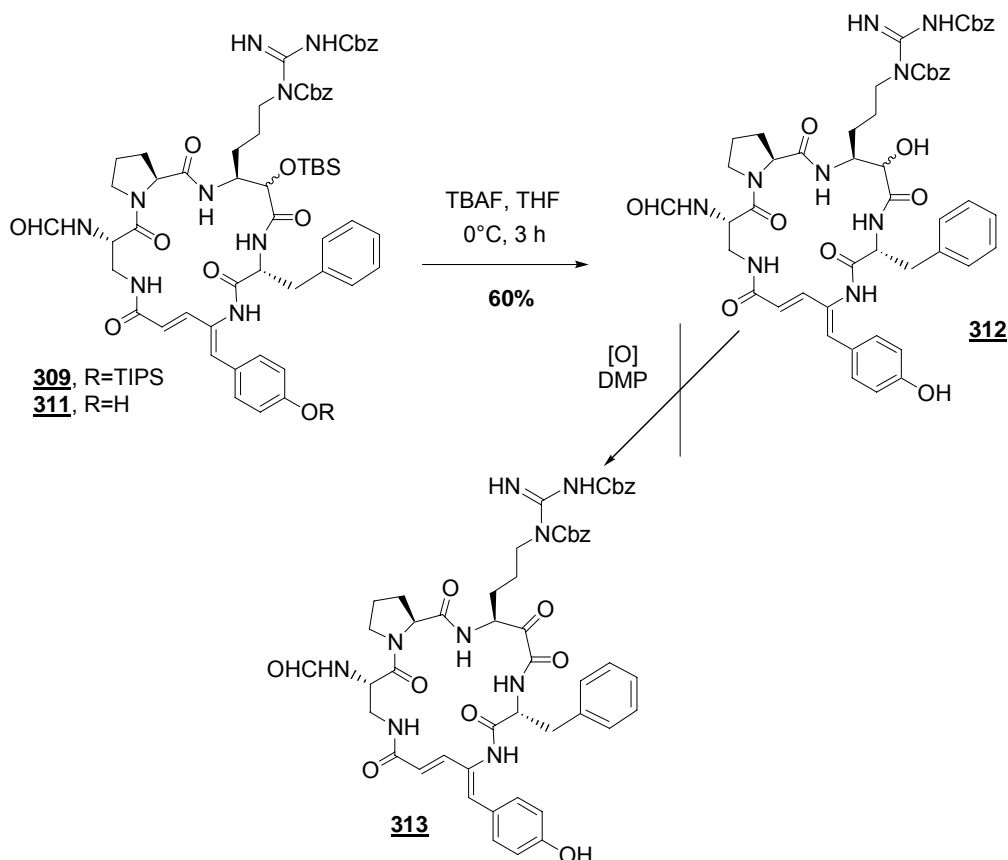


Schéma 110

Ce travail est toujours en cours au Laboratoire, puisque nous envisageons de reprotéger le phénol du résidu V- Δ Tyr du macrocycle **312** (sans doute par un acétate, voir **Schéma 86**, section IV.3.2), avant de réaliser l'oxydation de la fonction α -hydroxyamide en α -cétoamide.

Une autre perspective de ce travail serait de réaliser une nouvelle réaction MAC [2+3] mettant en jeu le tripeptide aldéhyde **157**, le dipeptide amine **267**, et un autre réactif MAC, le composé **314** ayant une protection orthogonale à celles des chaînes latérales des partenaires peptides **157** et **267** (**Schéma 111**)¹⁹¹. Cette réaction MAC pourrait nous permettre de synthétiser le pentapeptide linéaire **315** contenant le résidu H-(O-Ac)-Arg. Le pentapeptide **315** serait ensuite cyclisé pour fournir le macrocyle **316** dont le résidu H-(O-Ac)-Arg pourrait être déprotégé sélectivement avant d'être oxydé en motif K-Arg. Cette nouvelle stratégie devrait nous conduire à la synthèse du CtC (**Schéma 111**).

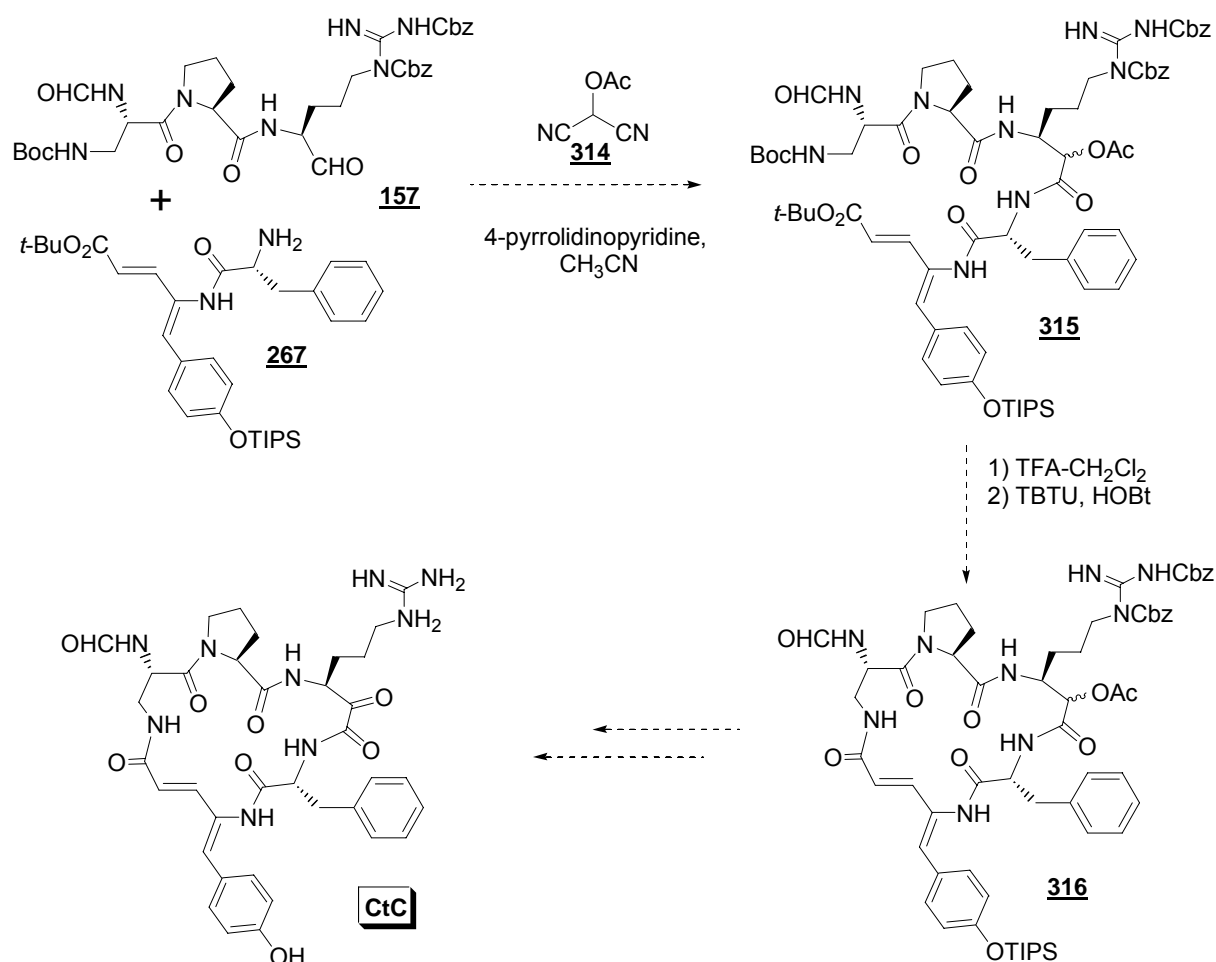


Schéma 111

¹⁹¹ H. Nemoto, T. Kawamura, N. Miyoshi, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 14546-14547.

V.3. Stratégie « KAC »

La méthodologie qui exploite les α -cétoacyanophosphoranes comme précurseurs des α -cétoacylcyanures, a été développée durant ces dix dernières années par l'équipe de Wasserman pour la synthèse de composés α -tricarbonylés, α -cétoesters et α -cétoamides (**Figure 49**)^{62,63}. En effet, un α -cétoacyanophosphorane peut subir une coupure oxydante à l'aide d'ozone ou d'oxone® (peroxomonosulfate de potassium) pour donner un α -cétoacylcyanure très réactif, qui est attaqué par un nucléophile de type alcool ou amine dans un processus addition-élimination pour donner respectivement, un α -cétoester ou un α -cétoamide.

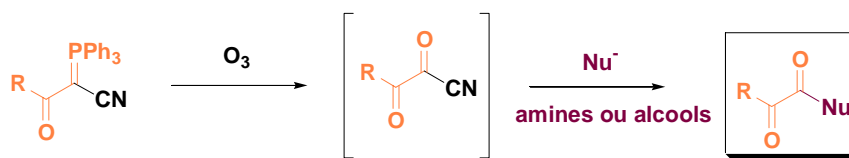


Figure 49. Réactivité des α -cétoacyanophosphoranes après ozonolyse

Wasserman et coll. ont utilisé cette méthodologie pour la synthèse totale de molécules assez variées comportant une fonction α -cétoamide ou un α,β -dicétoamide^{192,193}. Ils ont notamment appliqué cette stratégie pour la synthèse des CtE₂ et CtE₃⁵¹. Un autre bel exemple a été décrit pour la synthèse de l'eurystatine A **319**, synthétisée en 9 étapes avec un rendement global de 11% (**Schéma 112**)⁹⁴. Le dipeptide α -cétoacyanophosphorane **206** a été préparé à partir de la Fmoc-Ala-C(PPh₃)CN **204** avec un rendement de 56% sur deux étapes. Ensuite l' α -cétoacyanophosphorane **206** a subi une ozonolyse avant d'être mis en présence de l'amine Leu-O-*t*-Bu pour conduire au tripeptide **317** avec un rendement de 76%. Le tripeptide **317** a été déprotégé simultanément aux extrémités C et N-terminales par le TFA, avant d'être cyclisé en présence de DPPA et d'hydrogénocarbonate de sodium comme base pour conduire au macrocycle **318** avec un rendement de 89% (**Schéma 112**).

¹⁹² H. H. Wasserman, J. Wang, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 5581-5586.

¹⁹³ Revue : H. H. Wasserman, J. Parr, *Acc. Chem. Res.* **2004**, 37, 687-701.

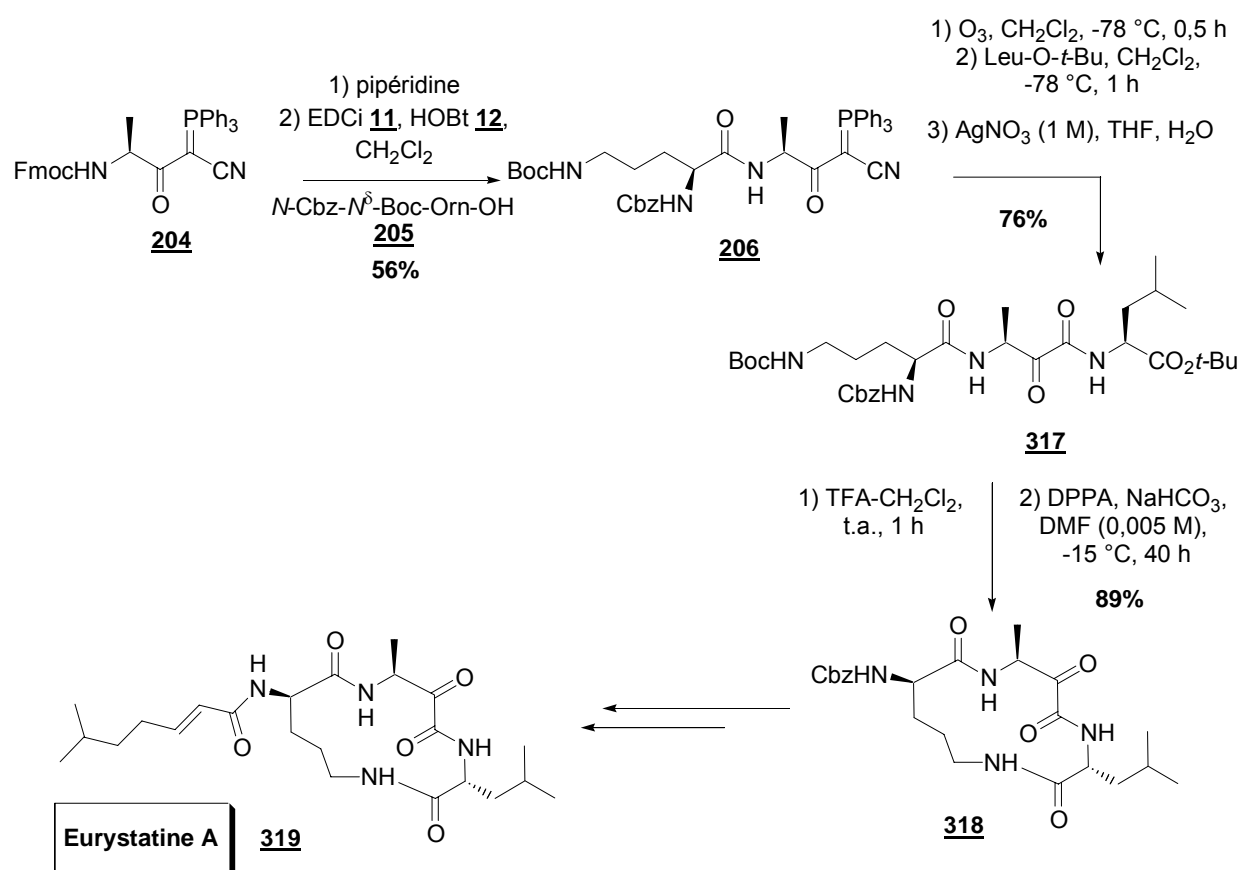


Schéma 112

Nous avons décidé de reprendre cette stratégie, désignée « KAC » (α -Keto-Acyl-Cyanide) au chapitre II, et de la développer pour la synthèse du CtC (**Figure 49**).

Comme nous l'avons fait pour les précédentes stratégies, nous définissons une réaction KAC de type $[x+y]$, où x est le nombre de résidus d'acides aminés apportés dans le motif nucléophile amine, et y est le nombre de motifs acides aminés présents dans le partenaire α -cétocyanophosphorane.

Dans une première partie nous allons examiner la synthèse de tripeptides ayant une fonction α -cétamide par une réaction KAC $[2+1]$, mettant en jeu un dipeptide amine et un α -cétocyanophosphorane dérivé de l'arginine. Ces tripeptides seront ensuite développés pour construire les pentapetides linéaires désirés.

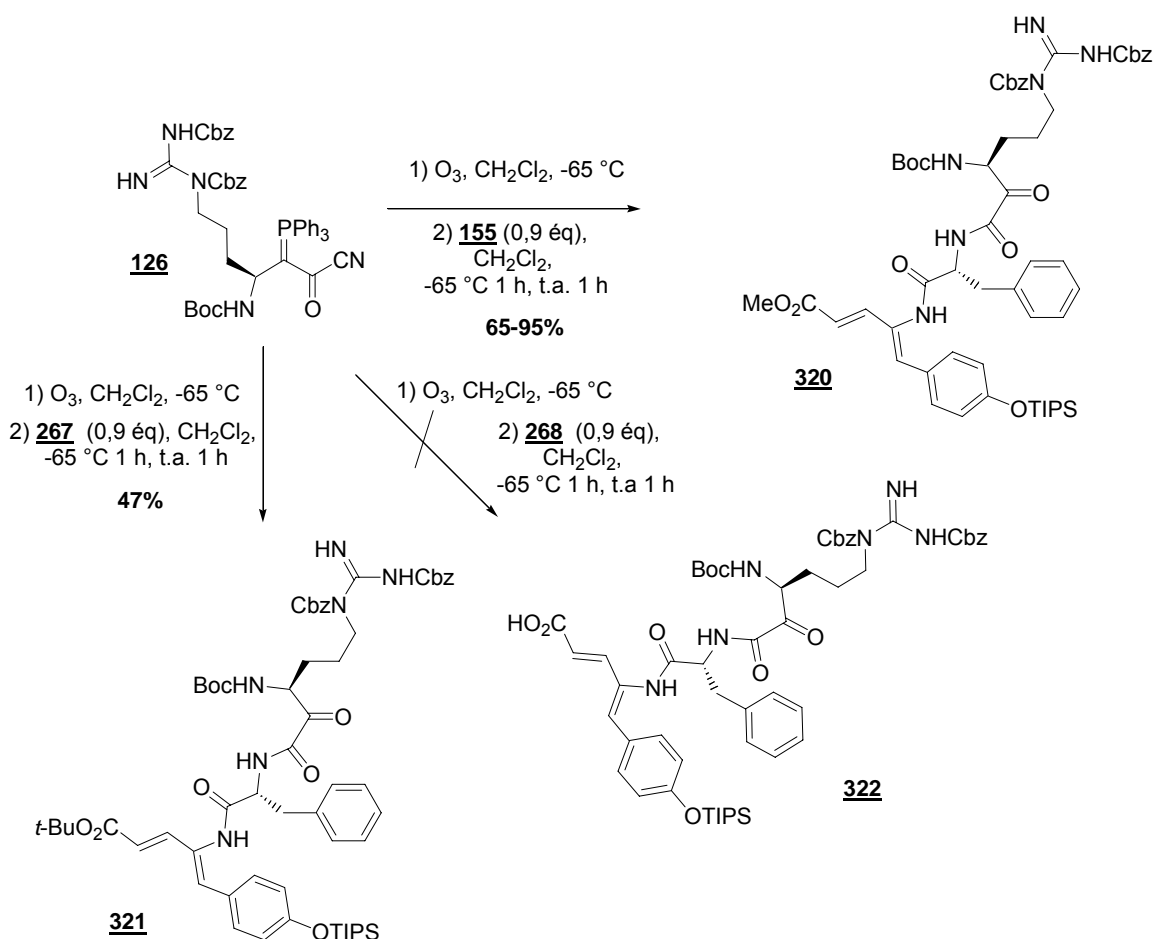
Dans une seconde partie nous étudierons les réactions KAC $[2+3]$ et $[4+1]$ qui devraient mener directement à des pentapeptides linéaires incorporant une fonction α -cétamide.

La troisième partie sera consacrée à la macrocyclisation des différents pentapeptides obtenus et enfin nous discuterons de l'obtention du CtC.

V.3.1. Réaction KAC [2+1]

En nous inspirant des travaux de Wasserman^{51,192}, nous avons effectué l'ozonolyse de l'arginine α -cétocyanophosphorane **126** à -65 °C. Ceci a conduit au dérivé α -cétocyl cyanure correspondant, qui a subi l'attaque nucléophile d'un dipeptide amines **155** ou **267** pour donner respectivement les tripeptides **320** et **321** avec des rendements respectifs de 95% et 47% (**Schéma 113**).

Lors de notre travail sur la préparation des nucléophiles amines (section IV.2.2), nous avons obtenus le dipeptide V- Δ Tyr-D-Phe **268**, doublement déprotégé aux extrémités C et N-terminales. Nous avons voulu tester sa réactivité dans une réaction KAC [2+1] et comme on le voit sur le **Schéma 113**, nous n'avons pas obtenu le tripeptide **322**. Ce résultat nous permet de conclure que la présence d'un acide carboxylique est incompatible avec réaction KAC.

**Schéma 113**

Ensuite, notre objectif a été de développer le tripeptide **320** du côté C-terminal pour accéder au pentapeptide correspondant, précurseur de CtC. Pour cela, il nous faut introduire le dipeptide approprié Dpr-Pro **269** du côté C-terminal du composé **320**. Pour y parvenir, nous

avons essayé de saponifier l'estér méthylique du tripeptide **320** par action de soude dans l'éthanol. Cette réaction ne nous a pas permis d'isoler le produit désiré **322**, mais un produit inconnu de poids moléculaire 417 (ESI-MS $m/z = 418$, $[MH]^+$), issu d'une dégradation du tripeptide **320** en milieu basique (**Schéma 114**). Cet échec est une illustration de la sensibilité des peptides comportant cette fonction α -cétoamide.

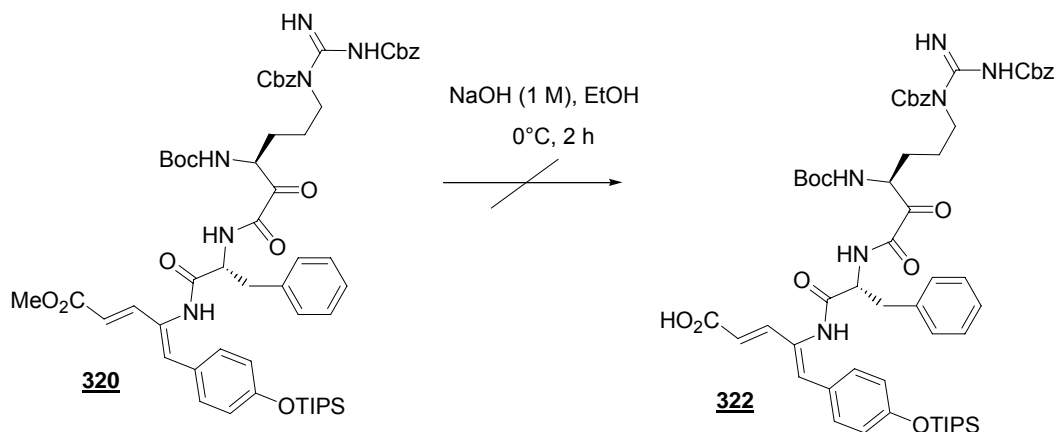


Schéma 114

L'élongation du tripeptide **320** du côté C-terminal paraissant problématique, nous avons étudié la deuxième possibilité : l'introduction du dipeptide Dpr-Pro **160** du côté N-terminal par couplage peptidique entre les motifs K-Arg et Pro (**Schéma 115**). Dans cette optique, nous avons déprotégé les tripeptides **320** et **321** dans les conditions appropriées (respectivement TFA et acide formique), puis nous avons réalisé le couplage avec le dipeptide **160** à l'aide d'EDCi en présence de DMAP en quantité catalytique pour obtenir les pentapeptides **323** et **324** avec des rendements respectifs sur deux étapes de 60% et 21% (**Schéma 115**).

Comme nous l'avons vu précédemment (section V.2.2), la déprotection sélective par l'utilisation d'acide formique est délicate, ce qui explique sans doute le mauvais rendement (21%) pour l'obtention du pentapeptide **324** (**Schéma 115**).



V.3.2. Réactions KAC [2+3] et [4+1]

La première partie de ce travail concerne la stratégie d'assemblage [2+3]. Pour cela nous avons utilisé le tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** qui a été ozonolysé avant de subir l'attaque nucléophile du dipeptide **267** pour conduire au pentapeptide **324** avec un rendement de 48% (**Schéma 116**). Il faut noter que l' α -cétocyanophosphorane **159** a été

utilisé fraîchement préparé et que nous aurions peut être pu améliorer le rendement de la réaction KAC, par l'utilisation d'un grand excès de ce composé. Cependant, nous avons estimé que le tripeptide **159** était trop précieux pour être utilisé en excès.

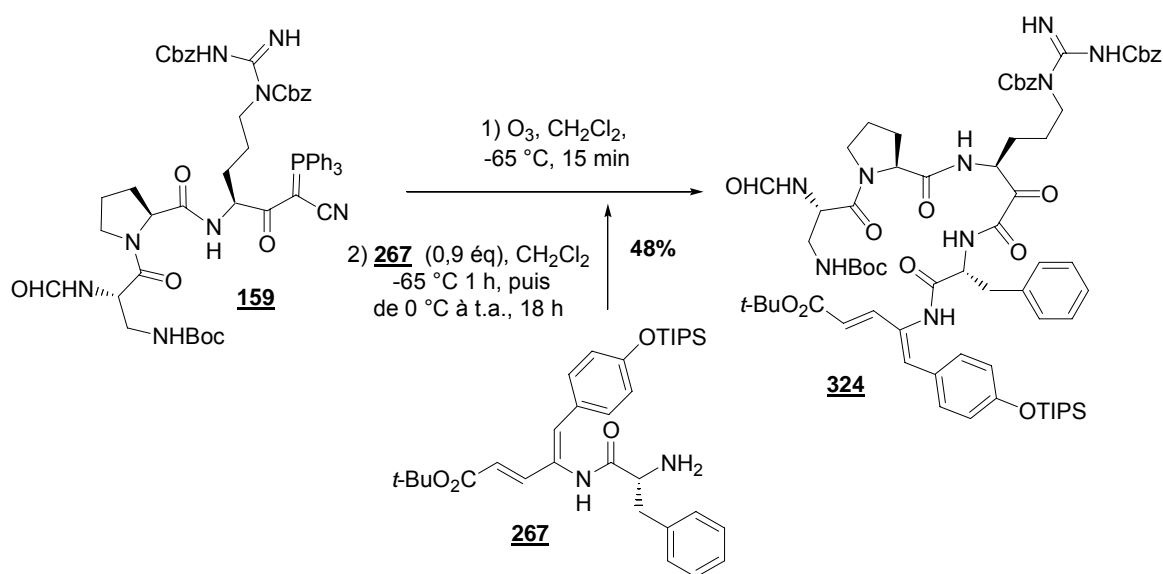


Schéma 116

Comme nous l'avons déjà mentionné (Chapitre III, III.2.2), la littérature ne présente pas beaucoup d'exemples de synthèse d'α-cétocyanophosphoranes « complexes », c'est-à-dire dérivés de di- ou tripeptides, car les ozonolyses semblent plus favorables sur des α-cétocyanophosphoranes dérivés d'acides aminés.

La suite de ce travail sur la réaction KAC a donc concerné l'assemblage d'un pentapeptide par une réaction KAC de type [4+1]. Une telle complexité (utilisation d'un tétrapeptide amine) pour une réaction KAC n'avait encore jamais été atteinte dans la littérature. Pour cela, nous avons ozonolysé l'α-cétocyanophosphorane dérivé d'arginine **126**, qui a subi dans un deuxième temps l'attaque nucléophile du tétrapeptide amine **277** pour conduire au nouveau pentapeptide **325** avec un rendement de 58% (Schéma 117). Nous avons ainsi constaté que la présence du phénol non protégé au niveau du résidu V-ΔTyr n'a pas été problématique lors de la réaction KAC.

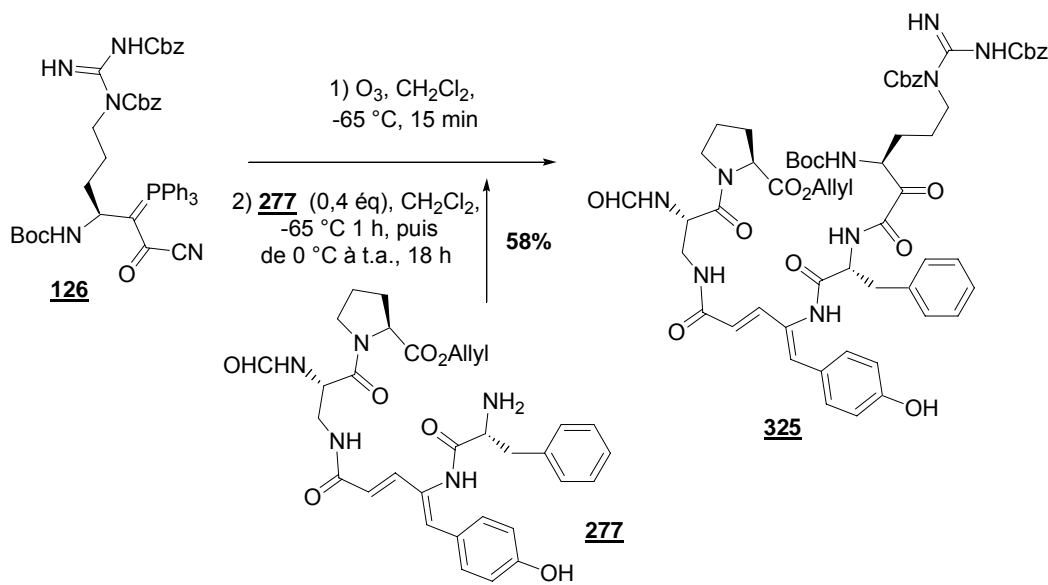


Schéma 117

Nous avons réalisé avec succès une réaction KAC [4+1] et nous avons noté qu'elle nécessitait un temps de réaction assez long. Pour cette réaction KAC [4+1], nous avons utilisé un plus grand nombre d'équivalents de l' α -cétocyanophosphorane **126**, facile d'accès, ce qui permet sans doute l'obtention du pentapeptide **325** avec un meilleur rendement (calculé à partir de **277**).

V.3.3. Macrocyclisation des pentapeptides linéaires obtenus par réactions KAC.

Trois pentapeptides linéaires, **323**, **324** et **325**, précurseurs de CtC, ont été obtenus par des réactions KAC [2+1]+2, [2+3] et [4+1]. Quelques étapes de synthèse importantes restaient à faire pour accéder au CtC, à commencer par la macrocyclisation.

Dans un premier temps, nous avons étudié le pentapeptide **325**. L'exploitation de ce composé implique une macrocyclisation entre Pro et K-Arg ; point de macrocyclisation qui avait donné les meilleurs résultats pour la stratégie « MAC » (section V.2.5.c). De plus, le pentapeptide **325** que nous avons préparé comporte les mêmes groupements protecteurs (Boc et Allyl) que le pentapeptide **130** décrit par Wasserman lors de la synthèse des CtE₂ et E₃ (**Schéma 15**, Chapitre I, I.5.6)⁵¹. Nous pensions donc que la fonction K-Arg du pentapeptide **325** résisterait aux réactions successives de déprotection (**Schéma 118**).

Pour cela, le pentapeptide linéaire **325** a subi premièrement une déprotection du côté *N*-terminal à l'aide de TFA pour obtenir de façon quantitative le pentapeptide **326** (**Schéma 118**). Cette étape a été suivie d'une coupure de l'ester allylique du côté *C*-terminal avec du palladium(0). Pour cela, Wasserman et coll. ont utilisé le tétrakis(triphénylphosphine) palladium(0) en quantité catalytique en présence de phénylsilane pour déprotéger l'ester allylique. Nous avons donc repris ces conditions opératoires, puis essayé la macrocyclisation à l'aide de différents réactifs de couplage, mais le macrocycle désiré, le cyclo[*N*^α-CHO-Dpr-Pro-*N*^δ,*N*^ε-(Cbz)₂-K-Arg-*D*-Phe-V-ΔTyr] **327** n'a pas été isolé (**Tableau 24**, entrée 1).

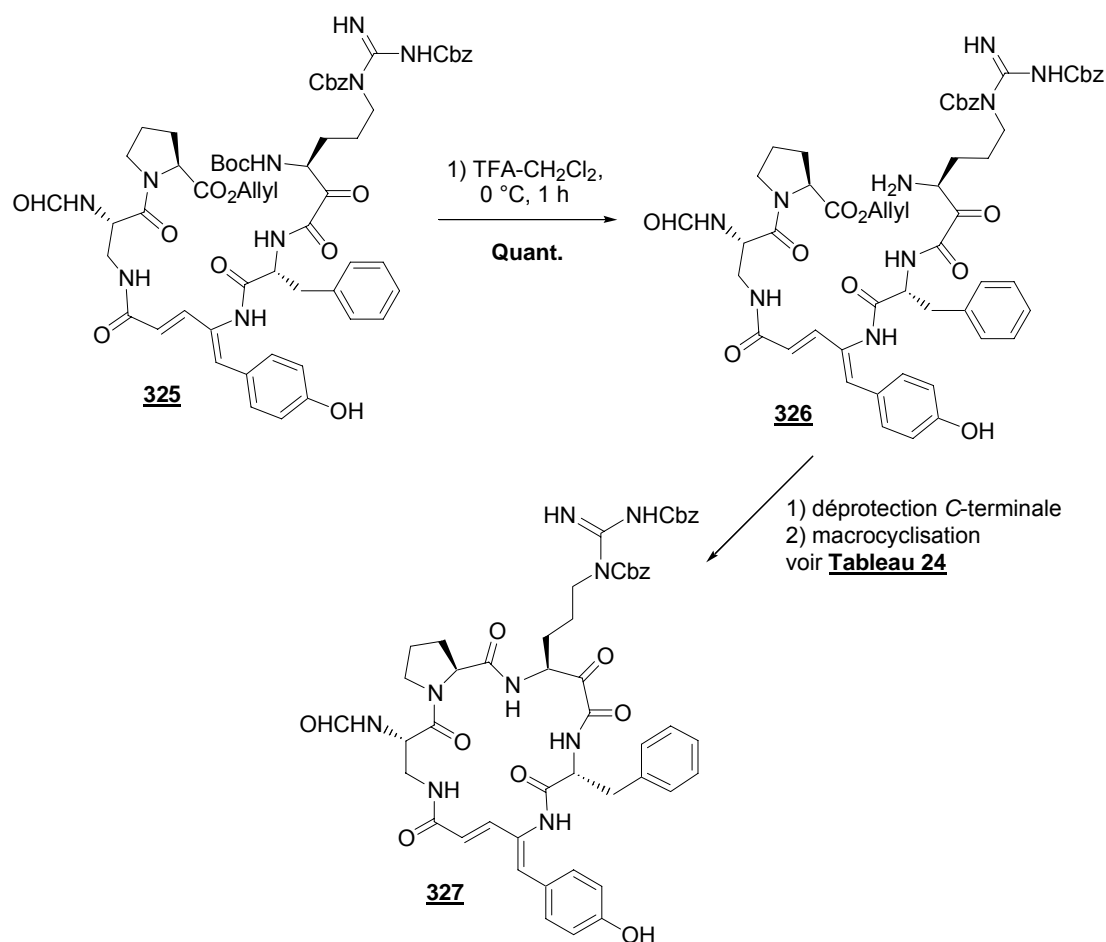


Schéma 118

Tableau 24. Différents systèmes de déprotections-macrocyclisation du pentapeptide 326.

| Entrée | Réactifs de déprotection | Réactifs de macrocyclisation | Solvant et concentration de macrocyclisation | Rdt en macrocycle 327 |
|--------|--|--|--|------------------------------|
| 1 | Pd(PPh ₃) ₄ (0,1 éq) PhSiH ₃ (1,5 éq) | FDPP (1,5 éq), <i>i</i> -Pr ₂ NEt (5 éq) | DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/2), (0,01 M) | 0% |
| 2 | Pd(PPh ₃) ₄ (0,1 éq) morpholine (1,5 éq) | FDPP (1,5 éq), <i>i</i> -Pr ₂ NEt (5 éq) | DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/2), (0,01 M) | 0% |
| 3 | Pd(PPh ₃) ₄ (1 éq) AcOH (0,35 éq) | DPPA (5 éq), NaHCO ₃ (10 éq) | DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/2), (0,01 M) | 0% |

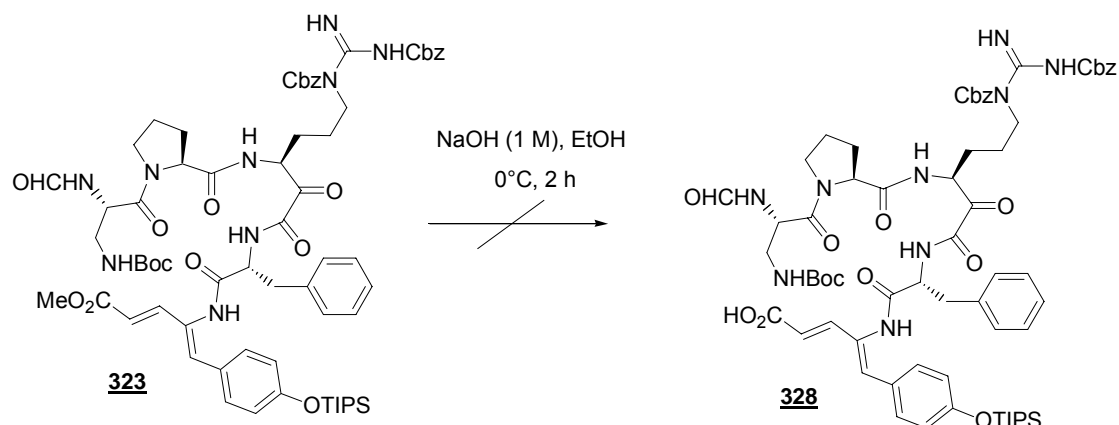
Nous avons ensuite examiné la littérature pour connaître les différentes conditions de déprotection d'ester allylique¹⁸⁹. L'une des conditions fréquemment utilisée dans la littérature met en jeu la morpholine comme additif au palladium(0), ce qui a été tentée avec le pentapeptide **326** sans succès (**Tableau 24, entrée 2**).

Comme nous avons émis l'hypothèse d'une forte sensibilité de la fonction α -cétoamide du résidu K-Arg vis-à-vis de nucléophiles ou de bases, nous avons essayé de déprotéger l'allyle à l'aide d'un autre système au palladium(0) en présence d'acide acétique (**Tableau 24, entrée 3**). Lors de ce dernier essai, nous avons essayé d'isoler notre pentapeptide didéprotégé, afin de le caractériser, ce qui s'est avéré très difficile pour une raison de grande polarité sur une phase de silice. Le produit ainsi obtenu a été mis en réaction de macrocyclisation, mais n'a toujours pas permis l'obtention du macrocycle **327** (**Schéma 118, Tableau 24**).

Après ces essais, nous ne savons toujours pas si le problème survient lors de la déprotection de l'allyle ou lors de la macrocyclisation. Comme nous l'avons mentionné précédemment (section V.2.5.a), il existe de nombreuses conditions de macrolactamisation, mais dans notre cas nous avons été limités par la sensibilité de la fonction α -cétoamide du résidu K-Arg. En effet, Wasserman et coll. ont utilisé le DPPA (5 éq) en présence de NaHCO₃ (10 éq) comme système de couplage pour la plupart des synthèses totales décrites ou un motif K-aa est présent^{94,193,193}, et nous ne sommes pas sûre que d'autres bases telles que la diisopropylamine ou la triéthylamine ne pourraient pas agir sur le motif K-Arg. Nous nous

sommes donc tourné vers la macrocyclisation des deux autres pentapeptides **323** et **324** au niveau de Dpr et V- Δ Tyr.

Nous avons poursuivi ce travail avec l'étude du pentapeptide **323**. Un essai de saponification de l'ester méthylique pour libérer le C-terminal n'a pas abouti. Conformément à ce que nous avons vu précédemment pour le tripeptide **320** (section V.3.1), les conditions d'hydrolyse basiques ont entraîné une dégradation du pentapeptide **323** en un produit toujours inconnu de poids moléculaire (ESI-MS $m/z = 418$, $[MH]^+$) (**Schéma 119**). Le produit obtenu lors de la saponification de **323** est de même poids moléculaire que lors de l'hydrolyse de **317** (section V.3.1), mais nous n'avons toujours pas élucidé la structure de ce composé.



Nous avons alors tourné notre attention vers le troisième pentapeptide linéaire, le composé **324**. Nous avons commencé par la double déprotection simultanée des extrémités C et N-terminales du pentapeptide **324**, par l'action de TFA conduisant au pentapeptide N^{α} -CHO-Dpr-Pro- N^{δ},N^{ϵ} -(Cbz)₂-K-Arg-D-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS) non isolé. Ce composé a été mis en réaction de macrocyclisation avec différents réactifs, soit en conditions basiques douces ou même sans base, afin d'éviter toute dégradation (**Schéma 120, Tableau 25**). Trois des réactifs testés ont été décrits pour des macrocyclisations avec succès : DPPA **27**¹⁹⁴, DEPC **26**¹⁹⁰ et TBTU **21**¹⁹⁵. Concernant l'utilisation de FDPP **28**, aucun exemple de la littérature ne rapportait sa compatibilité avec l'utilisation de NaHCO₃ comme base (généralement utilisé avec *i*-Pr₂NEt). En effet, nous avons préféré conserver des conditions basiques douces lors de la macrocyclisation, c'est pourquoi nous avons évité l'utilisation d'amines (secondaires ou tertiaires) (**Schéma 120, Tableau 25**).

¹⁹⁴ E. Didier, D. C. Horwell, M. C. Pritchard, *Tetrahedron* **1992**, 39, 8471-8490.

¹⁹⁵ P. Danner, M. Bauer, P. Phukan, M. E. Maier, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 317-325.

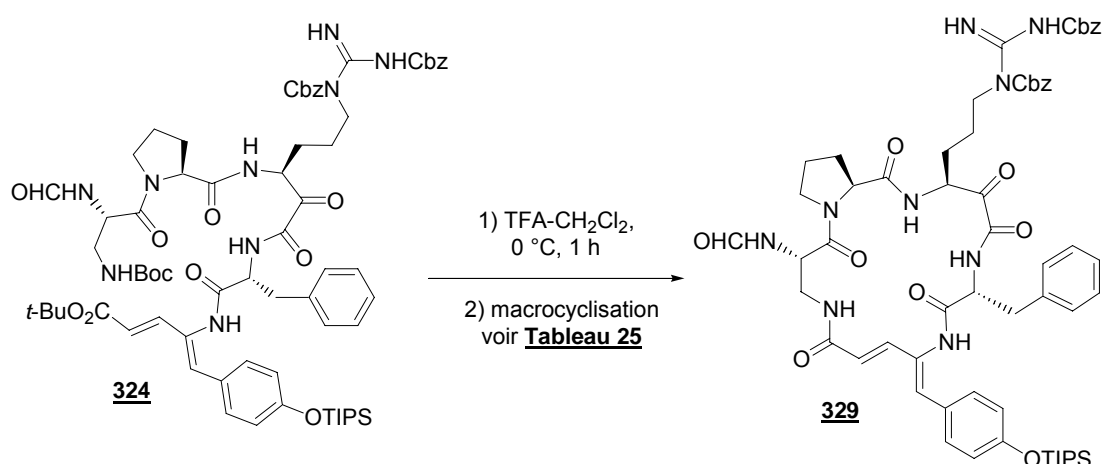


Schéma 120

Tableau 25. Différents systèmes de macrocyclisation après déprotection de 324.

| Entrée | Système de macrocyclisation | Solvant et concentration | Température et temps de réaction | Rdt en macrocycle 327 |
|--------|--|--|----------------------------------|------------------------------|
| 1 | DPPA (5 éq), NaHCO ₃ (10 éq) | DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/2), (0,005 M) | 0 °C, 48 h | 54%* |
| 2 | DEPC (5 éq), NaHCO ₃ (10 éq) | DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/2), (0,005 M) | 0 °C, 48 h | 50%* |
| 3 | FDPP (2 éq), NaHCO ₃ (5 éq) | DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/2), (0,005 M) | 0 °C à t.a., 24 h | 26% |
| 4 | TBTU (2 éq), HOBt (0,15 éq) | DMF/CH₂Cl₂ (1/2), (0,005 M) | 0 °C à t.a., 24 h | 51% |

* macrocycle **327** pas pure, présence de sous produits non séparables sur gel de silice.

Les résultats de déprotection-macrocyclisation du pentapeptide **324** entre les résidus ont été assez concluants (**Tableau 25**, entrées 1-4). Les macrocyclisations à l'aide des réactifs phosphorés DEPC et DPPA ont été efficaces et reproductibles (**Tableau 25**, entrées 1 et 2), malheureusement, jusqu'à présent le macrocycle **329** issu de ces réactions n'a pu être séparé des sous produits qui l'accompagnent (estimés à 10%). En revanche, l'activation du pentapeptide *in situ* en ester de pentafluorophényle par le FDPP a permis l'obtention du macrocycle pure **329** avec un rendement de 26% (**Tableau 25**, entrée 3). Enfin, l'activation du pentapeptide à l'aide de TBTU en présence de HOBt catalytique a été plus efficace et a permis l'isolement du macrocycle, le cyclo[*N*^α-CHO-Dpr-Pro-*N*^δ,*N*^ε-(Cbz)₂-K-Arg-*D*-Phe-V-ΔTyr(OTIPS)] **329** avec un rendement satisfaisant de 51% (**Tableau 25**, entrée 4).

Les études dans le contexte de la stratégie « KAC » pour la synthèse du CtC, nous ont apporté de précieuses informations :

- la fonction α -cétoamide créée lors de la réaction KAC est assez sensible, surtout aux conditions basiques, en effet comme nous l'avons vu dès le chapitre I, cette fonction est un piège électrophile puissant et très réactif.

- les peptides issus de réactions KAC sont sensibles aux conditions basiques et sans doute aux réactifs nucléophiles (dégradation, voir énolisation), ce qui doit être pris en compte lors de l'introduction des groupements protecteurs des réactifs de départ. Ceci interdit par exemple l'utilisation d'ester méthylique comme protection C-terminale des peptides (voir section V.3.1).

- les systèmes de déprotections et de couplages utilisés lors de couplages peptidiques et/ou de macrocyclisation doivent être soigneusement sélectionnés pour être compatible avec la fonction α -cétocétoamide du résidu K-Arg.

- Les peptides α -cétocyanophosphoranes utilisés lors des réactions KAC sont sensibles, se dégradant assez rapidement (1 à 2 semaines, même à 0 °C) et doivent donc être préparés peu de temps avant d'être mis en réaction. En effet, la réaction KAC [2+3] n'a pas donné de résultat très satisfaisant (48%), peut-être à cause d'une dégradation partielle du tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** (**Schéma 121**).

- la réaction KAC peut être menée avec des peptides nucléophiles complexes. En effet, une réaction KAC [4+1], qui n'avait encore jamais été décrite dans la littérature, a été réalisée de façon très satisfaisante avec l'obtention du pentapeptide **325** avec 58 % de rendement (**Schéma 121**).

En conclusion, la stratégie « KAC » [2+3] *via* la déprotection aisée des groupements *tert*-butyliques et la macrocyclisation entre les résidus Dpr et V- Δ Tyr, a permis l'obtention du macrocycle **329** avec un rendement global de **24,5 %** en **3 étapes**, ce qui est pour le moment le résultat le plus avancé.

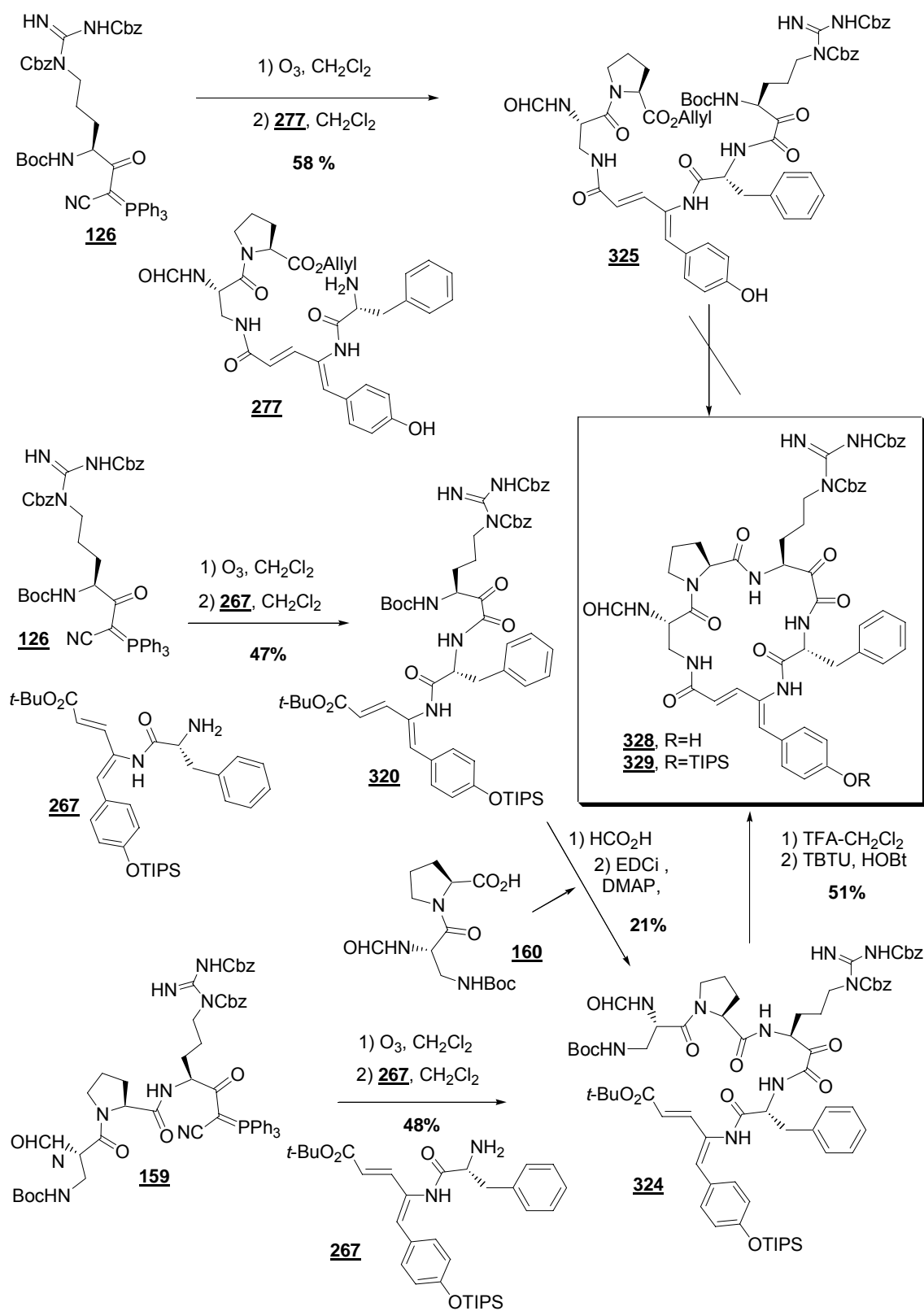


Schéma 121

V.3.4. En route vers le CtC

Pour terminer la synthèse totale du CtC, il était nécessaire de cliver les groupements protecteurs présents sur le résidu K-Arg du macrocycle **329** (deux groupements Cbz), ainsi que celui sur le résidu V-ΔTyr (groupement TIPS). Nous avons pour cela utilisé l'une des méthodes préconisée par la littérature, permettant une double déprotection simultanée, à savoir l'utilisation de fluorure d'hydrogène en présence d'anisole^{51a,b}. Deux réactions légèrement différentes ont été réalisées, la première en utilisant le HF en solution aqueuse en présence d'anisole, ce qui après trois heures de réaction à 0 °C, n'a donné aucune trace de CtC. Une partie du produit **329** a été déprotégé au niveau du phénol, mais une partie importante du matériel a été dégradée (**Schéma 122**).

Nous avons ensuite essayé le HF en solution dans la pyridine en présence d'anisole et cette fois nous avons obtenu le CtC, après deux heures de réaction à 0 °C^{51,196}. La réaction a été suivie par une analyse **ESI-MS**, pour observer un pic de masse ($m/z = 730$, $[MH]^+$) caractéristique du CtC. De plus, une analyse par **LC-MS** utilisant une HPLC (colonne C₁₈ phase inverse) avec un gradient de phase mobile composée de CH₃CN/H₂O 1/9 à 9/1, a montrée la présence d'un produit avec un temps de rétention de 18 minutes (**LC-MS** : $m/z = 748$ $[MH+H_2O]^+$) correspondant au CtC, molécule facilement hydratée sur le résidu K-Arg.

Pour l'instant, nous n'avons pas réussi à purifier par HPLC cet échantillon de CtC, car la charge de pyridine présente dans l'échantillon est très importante. Nous travaillons sur ce problème avec détermination et nous essayons en ce moment une filtration préalable de l'échantillon sur une cartouche "solid-phase extraction", éliminant ainsi une grande partie des sels de pyridinium. Une purification par HPLC préparative devrait ainsi nous permettre d'obtenir prochainement le premier échantillon synthétique pure de CtC.

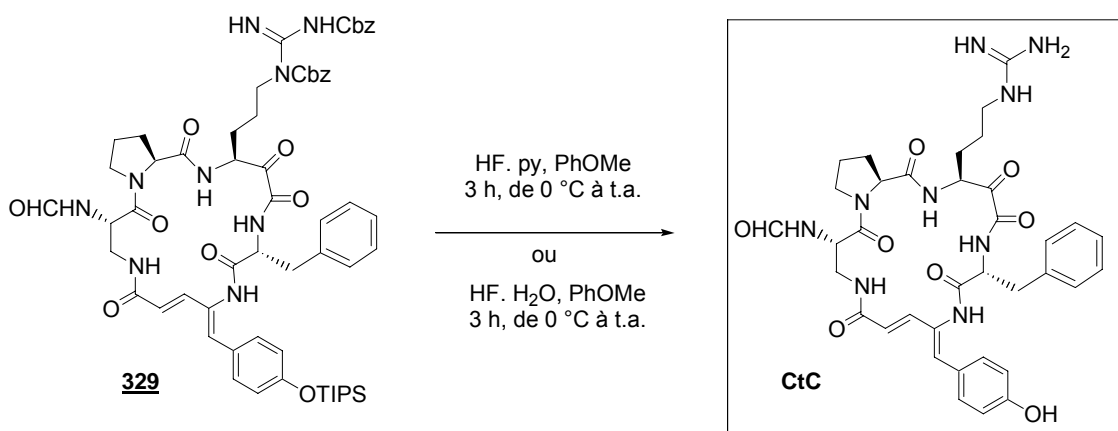


Schéma 122

¹⁹⁶ S. Matsuura, C-H. Niu, J. S. Cohen, *J. Chem. Soc., Chem Commun.* **1976**, 451-452.

Chapitre VI.
Comparaison des différentes
approches de la synthèse du CtC et
conclusion

VI.1. Comparaison des différentes stratégies

Un objectif central de ce travail a été la construction d'un squelette peptidique contenant le motif α -céto-homoarginine (**K-Arg**) qui constitue un point crucial de toutes les synthèses de Cts. Pour entreprendre la première synthèse de CtC, nous avons développé trois stratégies, « PAM », « MAC » et « KAC » faisant intervenir, comme étape clé, un couplage entre un peptide nucléophile et un peptide électrophile [**Nu+Elec**] pour créer le motif α -cétoamide de K-Arg ou son précurseur α -hydroxyamide H-Arg dans un enchainement peptidique linéaire. Nous allons dans ce chapitre présenter le bilan de ces trois approches (avantages, inconvénients et degré d'avancement) puis nous comparerons ces différentes stratégies.

L'étude de la stratégie « PAM » nous a montré qu'il était possible d'obtenir efficacement un pentadepsipeptide **290** par une réaction de Passerini entre un argininal, un dipeptide isonitrile et un dipeptide acide. Par contre le réarrangement par *O,N*-transacylation pour fournir un pentapeptide linéaire **292**, nous a posé problème (**Schéma 123**). Nous n'avons pas pu accéder au squelette peptidique du CtC par cette méthode. Cependant, notons que l'exploitation de la réaction de Passerini à un tel degré de complexité pour l'élaboration de peptides n'avait jamais été reportée.

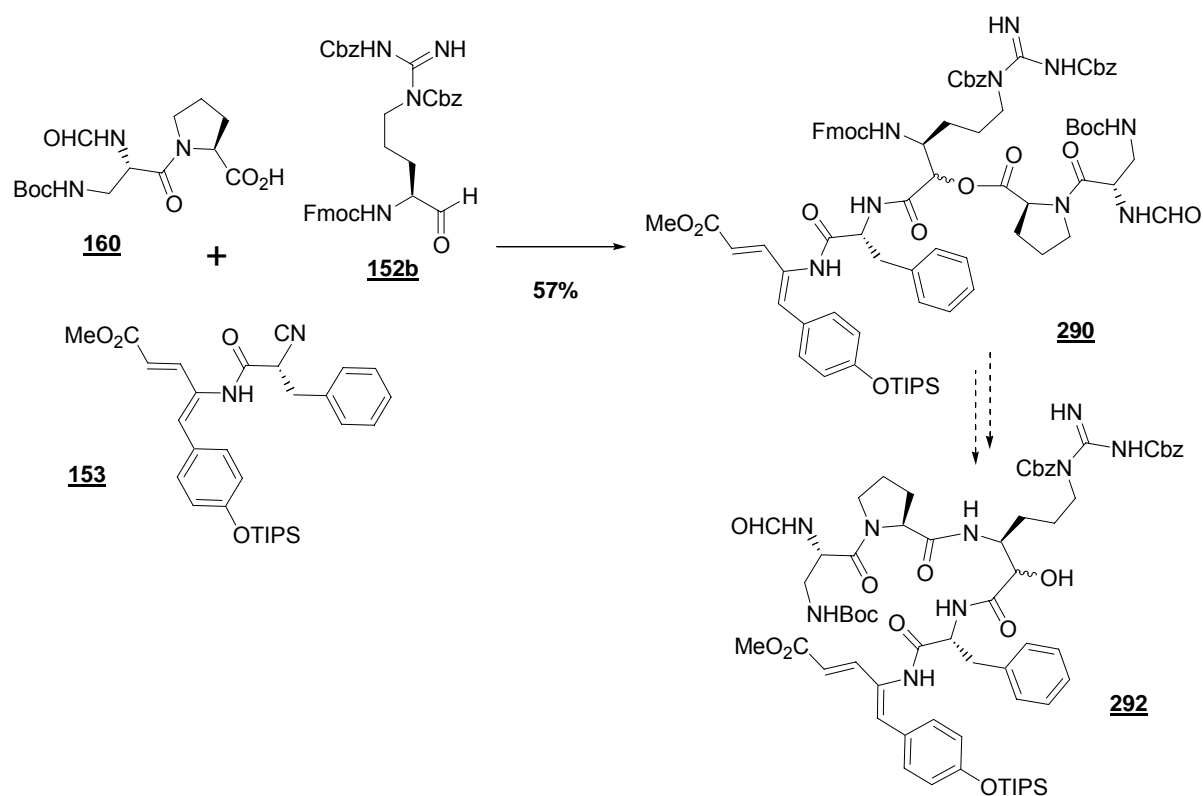


Schéma 123

La stratégie « MAC » utilisant un acyle cyanure masqué développé par Nemoto, a permis l'obtention de deux pentapeptides comportant le motif α -silyloxyamide avec des rendements satisfaisants (**Schéma 124**). Ceci représente un véritable progrès puisque cette réaction « one-pot » utilisant le réactif MAC **154** avait été utilisée auparavant uniquement pour accéder à des dipeptides. De plus, cette méthode a pour avantage de créer le motif H-Arg directement protégé au niveau de l'alcool par un groupement silylé. Les deux pentapeptides obtenus ont permis d'étudier les macrocyclisations au niveau Dpr-V- Δ Tyr et Pro-H-Arg avec différents réactifs de couplage. La construction des macrocycles nous a montré que chaque type de couplage est spécifique et nécessite une étude approfondie. Nous avons réussi à obtenir deux macrocycles ; malheureusement leur transformation en CtC a été impossible à cause de la présence de deux groupements silylés sur l'alcool et le phénol. Afin de mener cette synthèse à son terme, il faudrait protéger orthogonalement ces deux fonctions, par exemple par un éther silylé et un acétate.

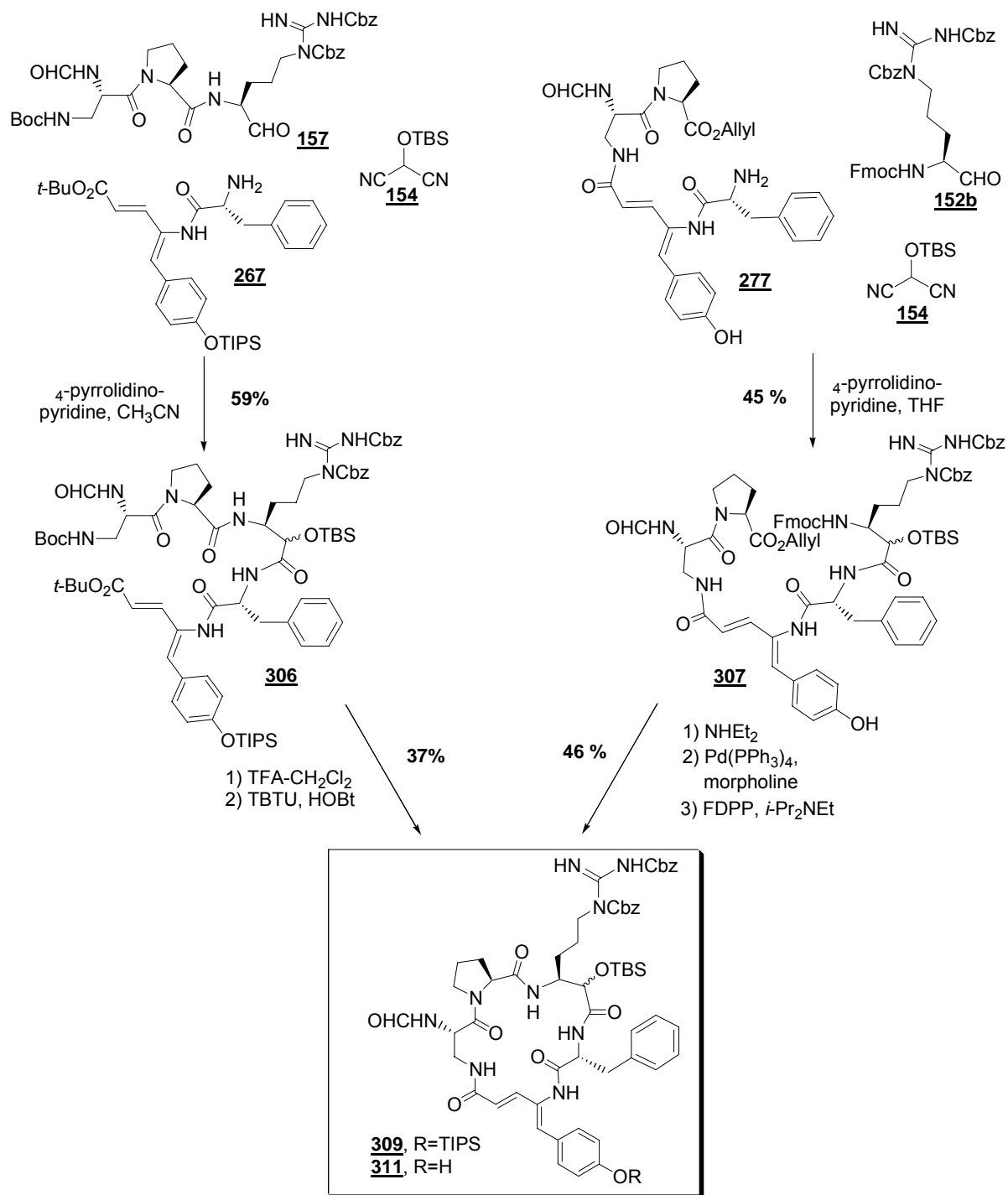


Schéma 124

La stratégie « KAC », développée par Wasserman lors de la synthèse des CtE₂ et CtE₃, a été adaptée pour la synthèse du CtC. Nous avons préparé par cette méthode trois pentapeptides différents, dont le pentapeptide 324, mais les rendements de la séquence ozonolyse/attaque nucléophile se sont avérés décevants en comparaison avec les résultats de

la littérature (**Schéma 125**). De plus, nous avons déjà rencontré quelques difficultés lors de la synthèse du tripeptide α -cétocyanophosphorane **159** de départ.

Néanmoins, nous avons réussi à développer l'accès au macrocycle **329** à partir duquel le cyclothéonamide C est accessible par déprotection des chaînes latérales. L'optimisation de cette étape de déprotection ainsi que la purification par HPLC du produit final est actuellement en cours.

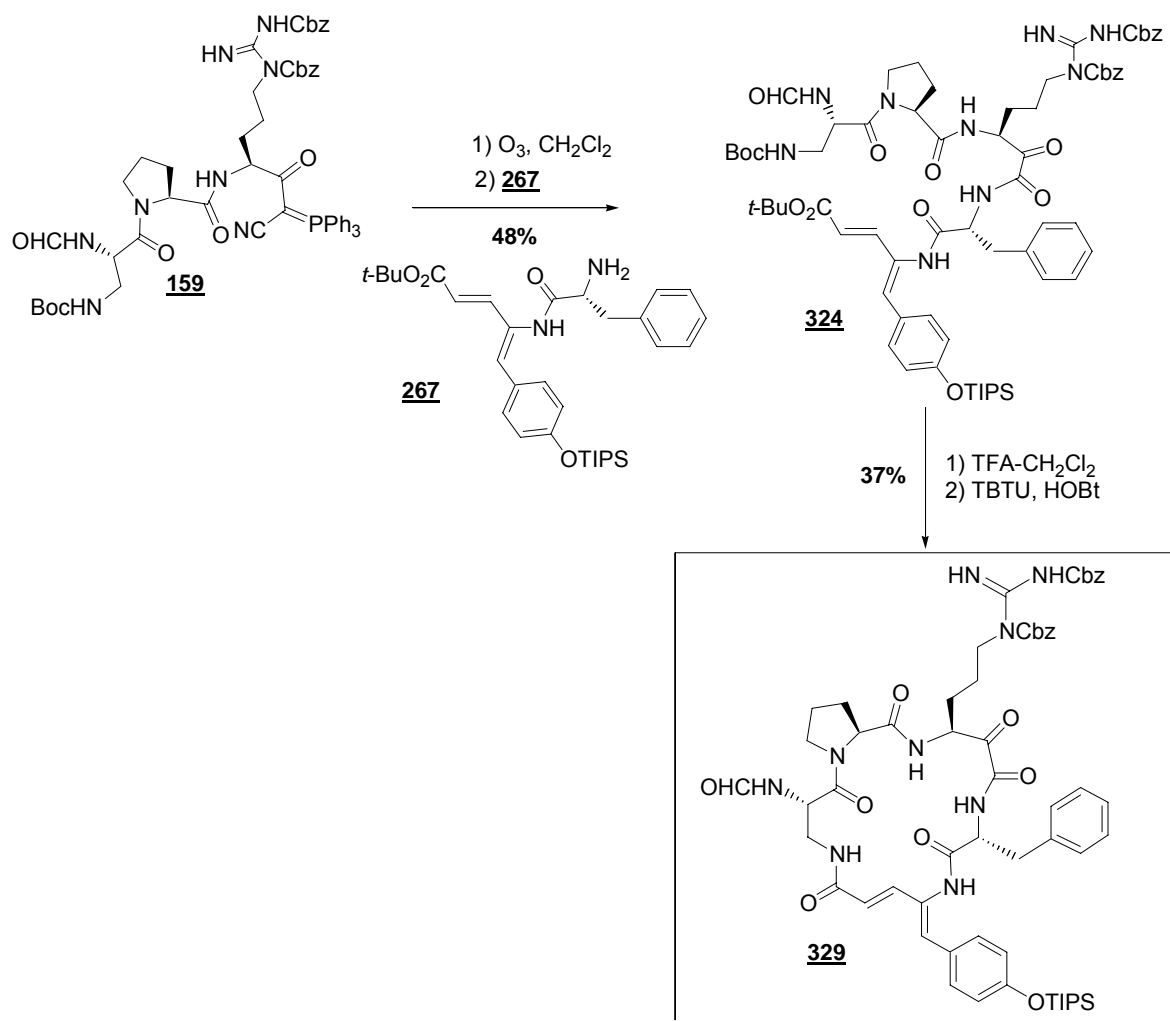


Schéma 124

Les différentes approches que nous avons développées ont pour originalité la construction d'un squelette pentapeptidique et la création du motif K-Arg (ou son précurseur H-Arg) simultanément. Nous sommes avec Wasserman les seuls à avoir envisagé une telle approche du squelette des cyclothéonamides.

Nous allons maintenant présenter une brève comparaison des différentes stratégies.

La stratégie « PAM », bien qu'elle n'ait pour l'instant pas permis l'accès à un pentapeptide précurseur du CtC, reste prometteuse. En effet, cette réaction multi-composants présente l'avantage de pouvoir moduler la nature des trois partenaires aldéhyde, isonitrile et acide. Ceci peut être intéressant pour la préparation d'analogues. D'autre part, les difficultés que nous avons rencontrées (différentiation des pentapeptides avant/après trans-acylation) pourraient être surmontées en utilisant un tripeptide aldéhyde du même type que celui impliqué dans la stratégie « MAC ». En effet, cette modification permettrait l'accès direct au pentapeptide **292** sans nécessiter l'étape de *O,N*-trans-acylation.

Au cours de nos études, nous avons constaté que les fragments nucléophiles et électrophiles impliqués dans la réaction MAC : (des aldéhyde et des amines) sont plus faciles d'accès que ceux engagés dans les autres stratégies. Ceci est un des points forts de cette stratégie. En effet, les dérivés isonitrile et α -cétocyanophosphorane nécessaires pour mettre en œuvre les stratégies « PAM » et « KAC », se sont avérés assez difficiles à obtenir.

Les stratégies « PAM » et « MAC » conduisent toutes deux à la création du motif H-Arg, ce qui implique la formation de diastéréoisomères. Toutefois, ceci n'est pas très gênant parce que l'alcool est destiné à être oxydé en cétone. Par contre, le passage par cet α -hydroxyamide précurseur de K-Arg engendre des étapes supplémentaires de protection et déprotection et surtout une étape d'oxydation qui, selon les auteurs des synthèses des Cts, est parfois peu efficace.

La stratégie « KAC » a pour spécificité la création immédiate du motif K-Arg, ne nécessitant pas le passage par un intermédiaire de type H-Arg. Ceci a pour avantages de diminuer le nombre d'étapes et d'éviter la formation de diastéréoisomères. En contrepartie, la cétone de K-Arg est un piège électrophile puissant, ce qui la rend très fragile. C'est pourquoi nous avons dû choisir minutieusement les conditions réactionnelles des transformations réalisées en sa présence, à savoir les déprotections et la macrocyclisation.

Pour mettre en œuvre la stratégie « KAC », nous avons dû faire face à de nombreux problèmes. Pourtant elle représente à l'heure actuelle la voie la plus prometteuse pour accéder au CtC.

VI.2. Conclusion

L'objectif de ce travail a été de réaliser la première synthèse totale du cyclothéonamide C. Pour y parvenir, il a fallu relever deux défis majeurs :

- L'élaboration du motif vinylogue de déshydrotyrosine (**V-ΔTyr**) qui est une spécificité structurale du CtC
- La construction d'un squelette peptidique contenant le motif α -céto-homoarginine (**K-Arg**) qui est le point crucial de toutes les synthèses de Cts.

Pour aborder ce deuxième défi, nous avons développés trois stratégies « PAM », « MAC » et « KAC » faisant intervenir, comme étape clé, un couplage entre un peptide nucléophile et un peptide électrophile [**Nu+Elec**] pour créer le motif α -cétoamide de K-Arg ou son précurseur α -hydroxyamide dans un enchainement peptidique linéaire.

Dans un premier temps, nous avons synthétisé les différents fragments électrophiles et nucléophiles nécessaires pour étudier les stratégies « PAM », « MAC » et « KAC ».

Dans la partie consacrée à la synthèse des électrophiles, nous avons en particulier développé une méthode d'accès simple et efficace au dipeptide **160** constitué de *D*-Phe et de l'acide aminé non protéinogénique Dpr qu'il nous a fallu préparer. D'autre part, nous avons consacré un temps important à l'obtention du composé tripeptide cyanophosphorane parce que sa préparation n'était pas aussi aisée que nous l'avions escompté.

L'enjeu le plus important de la synthèse des nucléophiles était la construction du motif V-ΔTyr, qui n'avait jamais été décrite. Une étude approfondie a permis la mise au point de plusieurs voies d'accès stéréosélectives au dipeptide *N*-Boc-*D*-Phe-V-ΔTyr(OTIPS)-OMe contenant ce motif.

Une fois les différents fragments synthétisés, nous avons pu étudier les différentes stratégies qui se sont révélées toutes les trois très intéressantes.

La stratégie « PAM » n'a pour l'instant pas permis d'accéder au squelette macrocyclique du CtC. Cependant elle reste prometteuse et son étude sera poursuivie au laboratoire.

Au cours de nos travaux, nous avons développé de manière significative la stratégie « MAC » introduite par Nemoto puisque nous avons démontré la possibilité d'accéder à des pentapeptides par réaction « one pot » d'une amine, d'un aldéhyde et du réactif MAC. Nous avons ainsi obtenu avec succès le squelette macrocyclique du CtC mais la synthèse n'a pu être menée à son terme faute de temps.

Enfin, nous avons examiné la stratégie « KAC » développée par Wasserman. Lors de notre étude, nous nous sommes heurtés à certaines limitations de cette méthode. Pourtant la stratégie « KAC » est à l'heure actuelle la plus avancée et devrait nous permettre l'obtention d'un échantillon de CtC très prochainement.

En conclusion, nous avons montré la possibilité d'accéder au CtC par la stratégie « KAC ». L'optimisation de la purification du macrocycle déprotégé est actuellement en cours et l'obtention d'un échantillon du produit cible pur est imminente.

Par ce travail, nous espérons avoir démontré le bienfondé des approches « PAM », « MAC » et « KAC » pour accéder au squelette macrocyclique du cyclothéonamide C mais également de tous les autres cyclothéonamides.

De plus, les approches que nous avons développées sont tout à fait appropriées pour la synthèse d'analogues des Cts. Une perspective de ce travail sera d'exploiter ces différentes stratégies convergentes pour la préparation d'analogues afin de réaliser des études de relation structure activité. En effet, la pharmacomodulation des cyclothéonamides afin d'augmenter leur activité inhibitrice et leur sélectivité pour la thrombine pourrait permettre la conception de nouveaux agents antithrombotiques.

Chapitre VII.

Experimental Section

VII.1. General methods

VII.1.1. Instrumentation

Nuclear magnetic resonance (**NMR**) spectra were measured in deuterated solvents (CDCl_3 , D_2O , acetone- d_6 , MeOD, DMSO- d_6) on a Bruker AC-400 spectrometer, operating at 400 MHz for ^1H and 100 MHz for J -modulation, using residual solvent signals as reference. Chemical shifts (δ) are reported in ppm, coupling constants values (J) are given in hertz. Multiplicity abbreviations (s : singlet, d : doublet, t : triplet, dd : double doublet, hept : heptuplet, bs : broad singlet, m : multiplet). NMR spectrum of main products will be totally interpreted.

Melting points (**MP**) were determined on Reichert microscope apparatus and are uncorrected.

Infrared (**IR**) spectra were recorded in CHCl_3 solution or in a KBr pellet on a Perkin-Elmer 881 spectrometer; only structurally important peaks (ν) are presented in cm^{-1} . Signal abbreviation (br : broad band).

Optical rotations (**OR**) were measured on a Jasco DIP-370 polarimeter, using a 10 cm quartz cell. Values for $[\alpha]_D^T$ were obtained with the D -line of sodium at temperature indicated T , from solutions of concentration c (in units of g/100 mL).

Chemical ionization mass spectra (**CI-MS**) using methane as ionization gas and electronic impact mass spectra (**EI-MS**) were recorded on an HP 5989B spectrometer (70 eV). Electrospray ionization mass spectra (**ESI-MS**) were recorded on a micro q-tof Micromass (3000 V) and high resolution mass spectra (**HR-MS**) were recorded on the same instrument with an internal lock mass (H_3PO_4) and an external lock mass (Leu-enkephaline). Mass spectra using liquid chromatography (**LC-MS**) were recorded on a micro q-tof Micromass (3000 V) with electrospray ionization and HPLC separations were carried out on Alliance system using a reversed-phase C_{18} Nucleosil column (100 mm x 2.1 mm, 5 μm pore size) with a flow rate of 0.3 mL min^{-1} .

Elementary Analysis (EA) were carried out on a Thermofinnigan FlashEA 1112 apparatus in the Microanalytical Laboratory, UMR 7565 (Nancy).

VII.1.2. Chemicals and Solvents

TLC were carried out on silica gel (60 F254, on alumina; Merck), visualised by UV fluorescence at 254 nm and revealed with

- ninhydrine for aminoacids and peptides (0.3% in *n*-Butanol)
- vanilline for the iodoaryles compounds (6% in ethanol)
- PdCl₂ for aldehydes (0.5% in water)

Flash chromatography was carried out on 15 cm length columns of silica gel (40-63 µm, Merck) using the Still methodology¹⁹⁷.

All solvent and liquid reagent were purified by distillation under argon :

- CH₃CN and DMF were distilled from CaH₂ and stored on molecular sieves 3 Å.
- CH₂Cl₂ was distilled from CaH₂.
- NEt₃ was distilled from CaH₂ and stored on molecular sieves 3 Å.
- NHEt₂ distilled from KOH and stored on molecular sieves 3 Å.
- Et₂O and THF were distilled from sodium with benzophenone.
- TMS-Cl was distilled under reduced pressure from NBU₃.

CuCl was activated as follows :

CuCl was dissolved in HCl (9 M) and stirred for 20 min (green/black solution), then water was carefully added. CuCl precipitated as a fine white powder, was filtered and washed several times with Et₂O and EtOH. CuCl could be stored in a light-protected flask under argon for several weeks.

All other reagents (including Ac₂O, HCO₂H, dioxane, peracetic acid, TIPSCl, 1,2-dichloroethane, TBSCl, imidazole, PCl₃, P(OMe)₃, allyl alcohol, activated MnO₂) were obtained from commercial sources and used without further purification. Some aminoacids (Pro-OBn, *N*-Boc-Arg, Asp, *N*-Boc-*D*-Phe-Ome, *D*-Phe) are commercially available and were purchased from Novabiochem.

¹⁹⁷ W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 2923-2925.

VII.2. General Procedures for peptides synthesis

VII.2.1. General procedure for the *tert*-butylcarbamate (Boc) group removal.

The *t*-butylcarbamate (1 mmol) was treated with a solution of CH₂Cl₂-TFA (1/1; 20 mL, 125 mmol, 125 eq) at 0 °C for 1 h, then solvents were evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in and concentrated from CH₂Cl₂ (3×30 mL) to furnish the trifluoroacetate salt. Subsequent treatment to afford the free amine will be described for each case.

VII.2.2. General procedure to transform a *tert*-butylcarbamate into a 9-fluorenylmethylcarbamate (Boc to Fmoc).

The *t*-butylcarbamate (1 mmol) was treated with a solution of CH₂Cl₂-TFA (1/1; 20 mL, 125 mmol, 125 eq) at 0 °C for 1 h, then solvents were evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in and concentrated from CH₂Cl₂ (3×30 mL) to furnish the trifluoroacetate salt. This material was dissolved in dioxane (18 mL) at 0 °C and a solution of Na₂CO₃ (10%; 12.7 mL, 12 mmol, 12 eq) was added. After stirring for 10 min, a white precipitate formed. 9-Fluorenylmethyl chloroformate (285 mg, 1.1 mmol, 1.1 eq) was then added and the reaction mixture was stirred and allowed to warm to rt over 12 h. Water (40 mL) was added and the aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3×30 mL). The combined organic phases were washed with a citric acid solution (5%; 30 mL), dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude product, which was purified by flash chromatography.

VII.2.3. General procedure for the Fmoc group removal.

The 9-fluorenylmethylcarbamate (1 mmol) was treated with CH₃CN-NHEt₂ (2/1; 71 mL, 231 mmol, 231 eq) at 0 °C for 30 min and a further 30 min at rt. Then solvents were evaporated under reduced pressure and the residue was dissolved in and concentrated from CH₂Cl₂ (3×40 mL) to furnish the crude amine, which was used in all cases without further purification.

VII.2.4. General procedure for deprotection of benzyl ester and/or benzylcarbamate by hydrogenation

The protected compound (1.0 mmol) was dissolved in methanol (5 mL) and palladium on carbon (Pd 10%; 21 mg, 0.02 mmol, 0.02 eq) was added. The solution was shaken in a Parr apparatus for a specified time under H₂ (50 psi, 3.4 atm). The solution was filtered on a Celite pad, washed with methanol (3×10 mL) and evaporated under reduced pressure to afford the crude deprotected product which was used without further purification.

VII.2.5. General procedure for peptide coupling reaction using EDCi / HOBt

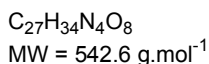
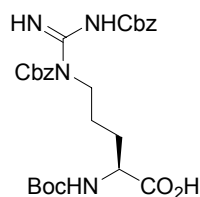
Carboxylic acid (1 mmol) was dissolved in CH₂Cl₂ (5 mL) under argon and cooled to 0 °C. Successively, the free amine (1.2 mmol, 1.2 eq) and hydroxybenzotriazole (189 mg, 1.4 mmol, 1.4 eq) were added. The resulting solution was stirred for 10 min, then EDCi (287 mg, 1.5 mmol, 1.5 eq) was added and the reaction mixture was stirred and allowed to warm to rt over 12 h. CH₂Cl₂ (10 mL) was added and the mixture was washed successively with citric acid solution (5%; 10 mL) and saturated NaHCO₃ solution (10 mL). The organic layer was dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude product which was purified by flash chromatography.

VII.2.6. General procedure for peptide coupling reaction using EDCi / DMAP

Carboxylic acid (1 mmol, 1 eq) was dissolved in CH₂Cl₂ (5 mL) under argon and cooled to 0 °C. Successively, the free amine (0.77 mmol, 0.77 eq) or alcohol (4.0 mmol, 4.0 eq) and 4-dimethylaminopyridine (24 mg, 0.2 mmol, 0.2 eq) were added. This solution was stirred over 10 min, then EDCi **11** (230 mg, 1.2 mmol for amines; 307 mg, 1.6 mmol for alcohols) was added and the stirred reaction mixture was allowed to warm to rt over a specified period. The solvent was evaporated under reduced pressure to afford the crude product which was purified by flash chromatography.

VII.3. Experimental Procedures chapter III

N^{α} -Boc- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz)₂-Arg 162



N^{α} -Boc-Arg.HCl **161** (1.32 g, 4.0 mmol) was suspended in 1,2-dichloroethane (24 mL) at 0 °C under argon and diisopropylethylamine (3.1 mL, 18 mmol, 4.4 eq) was added. This solution was stirred briskly at 0 °C for 10 min while distilled trimethylchlorosilane (1.7 mL, 13.2 mmol, 3.3 eq) was added slowly. This reaction mixture was then heated at 50 °C for 1.5 h (solution became brown), then cooled to 0 °C before adding successively diisopropylethylamine (2.3 mL, 13 mmol, 3.3 eq) and benzylchloroformate (5.7 mL, 40 mmol, 10 eq) in one portion. The reaction mixture was stirred at 0 °C for a further 1 h and allowed to warm to rt over 5-12 h. The reaction was quenched at 0 °C with a HCl solution (1 M; 10 mL) giving pH 1-2 then water (30 mL) was added and extraction was carried out with CH_2Cl_2 (3×40 mL). The combined organic layers were dried over MgSO_4 and evaporated under reduced pressure to afford the crude product (1.644 g), which was purified by flash chromatography using a gradient of EtOAc/MeOH from 100/0 to 9/1 to furnish the desired product (1.472 g, 2.7 mmol, **68%**).

MP = 134-136 °C (EtOAc/cyclohexane : 9/1).

TLC R_f = 0.50 (EtOAc/MeOH : 9/1).

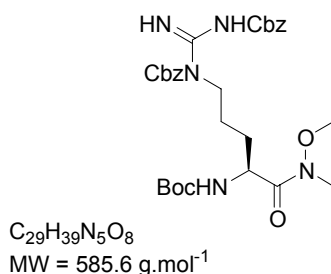
IR (CHCl_3) : ν = 760, 1220, 1510, 1630, 1840, 3030, 3400 cm^{-1}

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 1.31 (s, 9H), 1.51-1.69 (m, 3H), 1.70-1.80 (m, 1H), 3.90 (m, 2H), 4.19 (bs, 1H), 5.02 (s, 2H), 5.15 (s, 2H), 5.20 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.18-7.32 (m, 10H), 9.10-9.40 (m, 2H).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 24.9 (CH_2), 28.3 (3 CH_3), 28.9 (CH_2), 44.1 (CH_2), 53.3 (CH), 67.1 (CH_2), 69.0 (CH_2), 80.2 (C), 127.9, 128.4, 128.9 (10 CH), 134.6 (C), 136.8 (C), 155.8 (C), 155.9 (C), 160.5 (C), 163.6 (C), 175.7 (C).

ESI-MS : m/z = 581 $[\text{MK}]^+$, 565 $[\text{MNa}]^+$, 543 $[\text{MH}]^+$, 409 $[\text{MH-Cbz}]^+$.

OR : $[\alpha]_D^{25} = +9.0$ (c = 1.00, CHCl_3).

N^{δ} -Boc- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz)₂-Arg-N(OMe)Me 167

Product **167** was synthesised following the general procedure for peptide coupling with EDCi/DMAP in 6 h, using :

- 162** (558 mg, 1.03 mmol, 1 eq)
- DMAP (25 mg, 0.2 mmol, 0.2 eq)
- N,O*-dimethylhydroxylamine hydrochloride (150 mg, 1.54 mmol, 1.5 eq) which was dissolved in CH₂Cl₂ (5 mL) and treated with triethylamine (214 μ L, 1.54 mmol, 1.5 eq) then stirred at 0 °C for 10 min, before addition to the solution of acid **162**.
- EDCi (217 mg, 1.13 mmol, 1.1 eq)
- CH₂Cl₂ (20 mL)

Product **167** was obtained after purification by flash chromatography using a gradient of CH₂Cl₂/MeOH from 100/0 to 99/1, as a white solid (559 mg, 0.95 mmol, **93%**).

MP = 45-46 °C.

TLC R_f = 0.50 (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

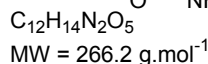
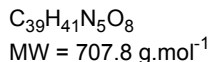
IR (KBr) : ν = 740, 1280, 1382, 1510, 1605, 1715, 3060, 3395 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.32 (s, 9H), 1.38-1.49 (m, 1H), 1.54-1.62 (m, 3H), 3.01 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 3.88 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 4.55 (bs, 1H), 5.03 (s, 2H), 5.12 (s, 2H), 5.16 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 7.15-7.33 (m, 10H), 9.14 (bs, 1H), 9.35 (bs, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 24.9 (CH₂), 28.3 (3 CH₃), 29.9 (CH₂), 32.0 (CH₃), 44.4 (CH₂), 50.3 (CH), 61.5 (CH₃), 67.0 (CH₂), 68.8 (CH₂), 79.5 (C), 127.8, 127.9, 128.2, 128.4, 128.8 (10 CH), 134.7 (C), 137.0 (C), 155.5 (C), 155.8 (C), 160.5 (C), 163.8 (C), 172.7 (C).

OR : $[\alpha]_D^{25} = +3.4$ (c = 1.10, CHCl₃)

 N^{δ} -Fmoc- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz)₂-Arg-N(OMe)Me 168



(3×50 mL). The aqueous layer was acidified to pH 1-2 using a HCl solution (2 M) to produce a white precipitate, which was filtered and washed with Et₂O (3×10 mL) to afford the pure desired product **185** (1.965 g, 7.4 mmol, **74%**), which was used without further purification.

MP = 244-246 °C.

TLC R_f = 0.10 (CH₂Cl₂/MeOH : 25/75).

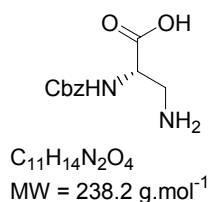
IR (KBr) : ν = 1260, 1382, 1543, 1592, 1715, 2930, 3304 cm⁻¹

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ (ppm) : 2.40-2.59 (m, 2H), 4.33 (bs, 1H), 5.03 (s, 2H), 6.92 (bs, 1H), 7.22-7.41 (m, 6H), 7.45 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 12.80 (bs, 1H).

¹³C NMR (DMSO- *d*₆) δ (ppm) : 36.7 (CH₂), 50.5 (CH), 65.4 (CH₂), 127.7 (2 CH), 127.8 (CH), 128.3 (2 CH), 136.9 (C), 155.8 (C), 171.1 (C), 173.2 (C).

OR : $[\alpha]_D^{25} = -8.0$ (c = 0.40, NaOH; 1 M).

N^α-Cbz-Dpr 171a



A solution of *N^α*-Cbz-Asp **185** (2.66 g, 10 mmol, 1 eq), EtOAc/CH₃CN/H₂O (2:2:1; 30 mL) and iodobenzene diacetate (PIDA) (3.86 g, 12 mmol, 1.2 eq) was stirred at ~5 °C for 30 mins under argon. The reaction mixture was stirred for a further 3-4h at rt until the starting material has totally disappeared then cooled to 5 °C to facilitate precipitation. The resulting white solid was filtered and washed with cold (0 °C) EtOAc (3×10 mL) to afford the pure desired product **171a** (2.05 g, 8.6 mmol, **86%**), which was used without further purification.

MP = 228-231 °C.

TLC R_f = 0.55 (*n*-propanol/H₂O : 7/3).

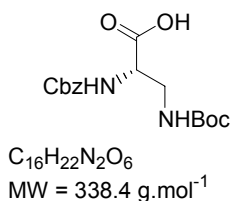
IR (KBr) : ν = 1270, 1379, 1541, 1592, 1695, 2949, 3304 cm⁻¹.

¹H NMR (D₂O) δ (ppm) : 3.09 (dd, J = 6.8 and 15.2 Hz, 1H), 3.30 (dd, J = 3.8 and 15.2 Hz, 1H), 4.11 (dd, J = 3.8 and 6.8 Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 7.27-7.39 (m, 5H).

¹³C NMR (D₂O) δ (ppm) : 41.6 (CH₂), 53.7 (CH), 67.8 (CH₂), 127.6, 127.8, 128.5, 128.7, 128.7 (5 CH), 136.0 (C), 173.9 (C), 175.0 (C).

CI-MS : m/z = 239 [MH]⁺, 91 [Bn]⁺.

OR : $[\alpha]_D^{25} = -8.0$ (c = 0.50, NaOH 1 M).

N^α-Cbz-N^δ-Boc-Dpr 59

Compound **171a** (1.056 g, 4.4 mmol, 1 eq) was dissolved in water (50 mL), then a solution of sodium hydroxide (2 M; 4.4 mL, 8.8 mmol, 2 eq) was added slowly. This solution was stirred and cooled to 0 °C over 10 min, then a solution of Boc₂O (1.160 g, 5.3 mmol, 1.2 eq) in dioxane (50 mL) was added slowly. The mixture was stirred and allowed to warm to rt over 12 h. The solution (pH 9) was acidified to pH 1-2 by slow addition of a solution of HCl (2 M) and extracted with EtOAc (3×50 mL). The organic layers were collected, dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure. Compound **59** (1.454 g, 4.3 mmol, **98%**) was obtained by recrystallisation in MeOH as a white amorphous solid.

MP = 231-234 °C (MeOH).

TLC R_f = 0.83 (*n*-propanol/H₂O : 7/3).

IR (KBr) : ν = 1165, 1271, 1307, 1527, 1667, 2984, 3369, 3407 cm⁻¹.

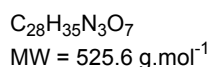
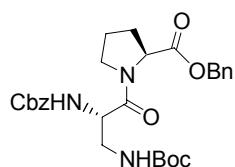
¹H NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 1.26 (s, 9H), 3.37 (m, 1H), 3.45 (m, 1H), 4.24 (bs, 1H), 4.95 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 6.11 (bs, 1H), 6.50 (bs, 1H), 7.17-7.26 (m, 5H).

¹³C NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 28.5 (3 CH₃), 42.6 (CH₂), 55.9 (CH), 66.8 (CH₂), 79.3 (C), 128.7, 128.8, 129.2 (5 CH), 138.1 (C), 157.0 (C), 157.3 (C), 172.2 (C).

CI-MS : m/z = 577 [2MH-Boc]⁺, 377 [MK]⁺, 339 [MH]⁺, 239 [MH-Boc]⁺.

OR : $[\alpha]_D^{25} = +6.7$ (c = 1.45, CHCl₃).

N^α-Cbz-N^δ-Boc-Dpr-Pro-OBn 187



Product **187** was synthesised following the general procedure for peptide coupling using EDCi/ HOBt for 18h, using :

-**59** (1.82 g, 5.4 mmol, 1 eq)

-HOBt (1.09 g, 8.1 mmol, 1.5 eq)

-CH₂Cl₂ (20 mL)

-Pro-OBn.HCl **186** (1.57 g, 6.5 mmol, 1.2 eq) which was dissolved in CH₂Cl₂ (5 mL) and treated with triethylamine (904 μL , 6.5 mmol, 1.2 eq) and stirred at 0 °C for 10 min, prior to being added to the reaction mixture.

-EDCi (1.55 g, 8.1 mmol, 1.5 eq)

Product **187** was obtained after purification by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 3/7 to 1/1, as a white solid (2.474 g, 4.7 mmol, **87%**).

MP = 115-116 °C.

TLC R_f = 0.65 (EtOAc/cyclohexane : 4/6).

IR (KBr) : ν = 770, 1170, 1220, 1450, 1510, 1650, 1720, 2990, 3020, 3440 cm^{-1} .

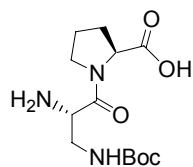
¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.36 (s, 9H), 1.75-1.82 (m, 3H), 1.92-1.97 (m, 1H), 3.21 (m, 1H), 3.38 (m, 1H), 3.66 (m, 2H), 4.53 (m, 1H), 4.61 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 5.02 (m, 2H), 5.05 (s, 1H), 5.14 (d, J = 12.2 Hz, 2H), 5.61 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.19-7.29 (m, 10H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 24.9 (CH₂), 28.4 (3 CH₃), 28.9 (CH₂), 42.7 (CH₂), 47.1 (CH₂), 52.3 (CH), 59.0 (CH), 67.0, 67.1 (2 CH₂), 79.5 (C), 128.0, 128.1, 128.2, 128.4, 128.5, 128.6 (10 CH), 135.4, 136.3 (2 C), 156.0, 156.1 (2 C), 169.4 (C), 171.6 (C).

CI-MS : m/z = 951 [2MH-Boc]⁺, 564 [MK]⁺, 526 [MH]⁺, 426 [MH-Boc]⁺.

OR : $[\alpha]_D^{25} = -42.0$ (c = 1.80, CHCl₃).

N²-Boc-Dpr-Pro-OH 188



$C_{13}H_{23}N_3O_5$
MW = 301.3 g.mol⁻¹

Product **188** was obtained following the general procedure for deprotection of a benzylcarbamate with a reaction time of 2.5 h, using:

- 187** (1.173 g, 2.23 mmol)
- palladium on carbon (Pd 10%, 95 mg, 0.09 mmol, 2×0.02 eq)
- MeOH (58 mL)
- H₂ (50 psi, 3.4 atm)

The crude was obtained after evaporation under reduced pressure with a bath temperature below 30 °C, as a white solid (655 mg, 2.17 mmol, **97%**) and was used without further purification in the next step.

MP (°C) = 116-118 °C.

TLC R_f = 0.50 (*n*-propanol/H₂O : 7/3).

IR (KBr) : ν = 1170, 1278, 1369, 1650, 1710, 2977, 3341 (br) cm⁻¹.

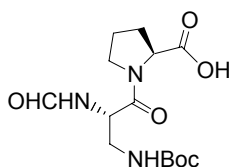
¹H NMR (D₂O) δ (ppm) : 1.34 (d, J = 8.0 Hz, 9H), 1.80-1.95 (m, 2H), 2.07-2.24 (m, 2H), 3.30-3.49 (m, 2H), 3.51-3.63 (m, 2H), 3.97 (t, J = 8.0 Hz, 0.5H), 4.22 (dd, J = 6.0 and 8.0 Hz, 0.5H), 4.34 (bs, 1H).

¹³C NMR (D₂O) δ (ppm) : 22.0 (CH₂), 27.5 (3 CH₃), 29.2 (CH₂), 40.0 (CH₂), 47.3 (CH₂), 51.7 (CH), 62.1 (CH), 80.5 (C), 155.7 (C), 166.3 (C), 178.7 (C).

CI-MS : m/z = 324 [MNa]⁺, 284 [MH-H₂O]⁺, 228 [MH-*t*-BuO]⁺, 184 [MH-H₂O-Boc]⁺.

OR : $[\alpha]_D^{25} = -5.0$ (c = 1.10, NaOH 1 M).

N⁴-CHO-N²-Boc-Dpr-Pro 160



$C_{14}H_{23}N_3O_6$
MW = 329.3 g.mol⁻¹

Acetic anhydride (2.3 mL, 11.8 mmol, 2.6 eq) was added slowly under argon to formic acid (1.1 mL, 14.1 mmol, 3.1 eq) at 0 °C. This reaction mixture was stirred for 10 min at rt

and heated at 55 °C for a further 1.5 h. The mixture was then cooled to 0 °C, diluted with THF (40 mL) and crude compound **188** (1.370 g, 4.55 mmol, 1 eq) was added. The reaction mixture was stirred for a further 15 h at a constant temperature of 8-10 °C. The mixture was evaporated under reduced pressure to furnish the crude (1.374 g) which was recrystallised from EtOAc/cyclohexane 9/1 to afford the desired pure product **160** (1.232 g, 3.74 mmol, **82%**) as a white solid. Diketopiperazine **189** (132 mg, 0.47 mmol, **10%**) was recovered by evaporation of the mother liquor.

MP = 178-180 °C (EtOAc/cyclohexane : 9/1).

TLC R_f = 0.62 (*n*-propanol/H₂O : 7/3).

IR (KBr): ν = 1170, 1253, 1530, 1648, 1707, 2976, 3260 cm⁻¹.

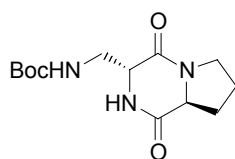
¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ (ppm) : 1.42 (s, 9H), 1.88-2.02 (m, 3H), 2.15-2.27 (m, 1H), 3.09 (m, 1H), 3.28 (m, 1H), 3.70 (m, 2H), 4.32 (m, 1H), 4.87 (m, 1H), 6.79 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.31 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 12.55 (bs, 1H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ (ppm) : 24.3 (CH₂), 28.1 (3 CH₃), 28.7 (CH₂), 41.6 (CH₂), 46.5 (CH₂), 48.8 (CH), 58.4 (CH), 78.0 (C), 155.6 (C), 161.0 (CH), 168.1 (C), 173.1 (C).

ESI-MS : m/z = 681 [2MNa]⁺, 367 [MK]⁺, 352 [MNa]⁺, 330 [MH]⁺.

EA : Calcd for C₁₄H₂₃N₃O₆ : C, 51.06 ; H, 7.04; N, 12.76; Found: C, 50.68 ; H, 7.14; N, 12.69.

Diketopiperazine cyclo-[N²-Boc-Dpr-Pro] **189**



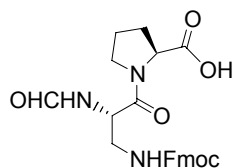
C₁₃H₂₁N₃O₄
MW = 283.3 g.mol⁻¹

White amorphous solid.

TLC R_f = 0.54 (EtOAc/MeOH : 9/1).

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.31 (s, 9H), 1.88 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 2.04 (m, 1H), 2.10 (m, 1H), 3.48 (m, 3H), 3.68 (m, 1H), 4.02 (m, 2H), 5.12 (bs, 1H), 6.84 (bs, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 22.8 (CH₂), 27.9 (CH₂), 28.3 (3 CH₃), 39.6 (CH₂), 45.4 (CH₂), 56.8 (CH), 59.2 (CH), 80.3 (C), 157.4 (C), 165.0 (C), 170.0 (C).

N^{α} -CHO- N^{β} -Fmoc-Dpr-Pro-OH 190

$C_{24}H_{25}N_3O_6$
MW = 451.5 g.mol⁻¹

Product **190** was synthesised following the general Boc to Fmoc procedure, using :

- 160** (200 mg, 0.60 mmol)
- CH₂Cl₂-TFA (6 mL)
- Na₂CO₃ (10%; 4.0 mL)
- dioxane (6 mL)
- FmocCl (163 mg, 0.63 mmol, 1.05 eq)

Product **190** was obtained after purification by flash chromatography using EtOAc/MeOH (90/10) as a white solid (207 mg, 0.46 mmol, **76%**).

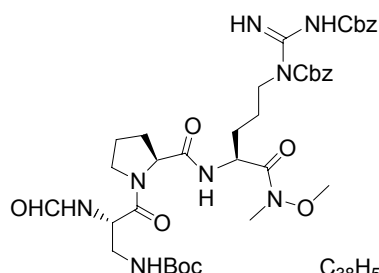
MP = 187-190 °C

TLC R_f = 0.65 (*n*-propanol/H₂O : 7/3) or R_f = 0.83 (EtOAc/MeOH : 95/5).

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ (ppm) : 1.84-1.93 (m, 3H), 2.10-2.20 (m, 1H), 3.08 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.59-3.73 (m, 2H), 4.23 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.28 (m, 3H), 4.83 (m, 1H), 7.32-7.45 (m, 5H), 7.69 (m, 2H), 7.89 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 8.04 (s, 1H), 8.33 (d, J = 8.4 Hz, 1H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ (ppm) : 24.3 (CH₂), 28.6 (CH₂), 40.1 (CH₂), 46.5 (CH₂), 46.6 (CH), 48.9 (CH), 58.4 (CH), 66.3 (CH₂), 120.1, 125.2, 127.0, 127.6 (8 CH), 140.7 (2 C), 143.7 (2 C), 156.2 (C), 161.1 (CH), 168.0 (C), 173.1 (C).

ESI-MS : m/z = 490 [MK]⁺, 474 [MNa]⁺, 452 [MH]⁺.

 N^{β} -Boc- N^{α} -CHO-Dpr-Pro- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz)₂-Arg-N(OMe)Me 191

$C_{38}H_{52}N_8O_{11}$
MW = 796.9 g.mol⁻¹

Product **191** was synthesised in two steps, firstly following to the general procedure for the Fmoc group removal, using :

- 168** (300 mg, 0.42 mmol)
- NHEt₂ (10 mL, 231 eq)
- CH₃CN (20 mL)

The clear oily crude (300 mg) was used without further purification and engaged according to the general procedure for the peptide coupling with EDCi/DMAP, using :

- crude amine (300 mg, 0.42 mmol)
- DMAP (5 mg, 0.04 mmol, 0.1 eq)
- CH₂Cl₂ (10 mL)
- dipeptide acid **160** (180 mg, 0.55 mmol, 1.3 eq).
- EDCi (129 mg, 0.67 mmol, 1.6 eq)

After adding the partner **160**, the reaction mixture was sonicated for 5 min to dissolve the suspension. Product **191** was obtained after purification of the crude (395 mg) by flash chromatography using a gradient of CH₂Cl₂/MeOH from 100/0 to 95/5, as a white solid (305 mg, 0.38 mmol, **91%**).

TLC R_f = 0.25 (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5).

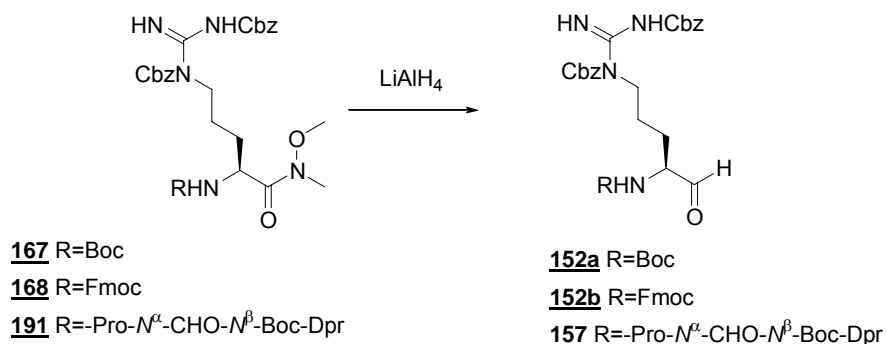
IR (KBr) : ν = 699, 1004, 1096, 1235, 1382, 1445, 1514, 1649, 1716, 2977, 3395 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.34 (s, 9H), 1.48-1.73 (m, 6H), 1.81-1.93 (m, 2H), 3.04 (s, 3H), 3.31 (m, 2H), 3.56 (m, 2H), 3.58 (s, 3H), 3.90 (m, 2H), 4.38 (bs, 1H), 4.88 (bs, 1H), 4.93 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 5.05 (s, 2H), 5.16 (s, 2H), 6.25 (bs, 1H), 7.06 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.18-7.43 (m, 11H), 8.03 (s, 1H), 9.19 (bs, 1H), 9.36 (bs, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 24.8 (CH₂), 25.0 (CH₂), 28.3 (3 CH₃), 29.0 (CH₂), 29.2 (CH₂), 32.0 (CH₃), 42.6 (CH₂), 44.4 (CH₂), 47.6 (CH₂), 49.0 (CH), 49.3 (CH), 60.6 (CH), 61.5 (CH₃), 66.9 (CH₂), 68.8 (CH₂), 79.3 (C), 127.8, 128.0, 128.1, 128.4, 128.6, 128.7 (10 CH), 134.8 (C), 136.8 (C), 155.7 (C), 156.3 (C), 160.5 (C), 161.3 (CH), 163.8 (C), 169.9 (C), 171.1 (C), 172.0 (C).

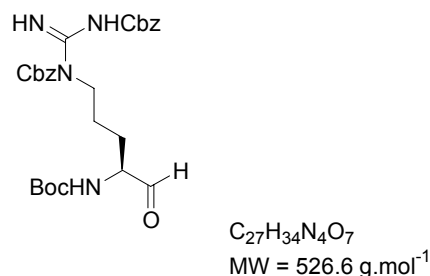
EA : Calcd for C₃₈H₅₂N₈O₁₁ : C, 57.28 ; H, 6.58; N, 14.06; Found: C, 57.38 ; H, 6.56; N, 14.03.

General procedure for the reduction of Weinreb amide using LiAlH₄



A solution of Weinreb amide (1 mmol) in THF (25 mL) was cooled to $-5/-10$ °C under argon and LiAlH_4 (1.5 mmol, 1.5 eq) was added in one portion. This reaction mixture was stirred briskly for a further 0.5-1.5 h and quenched with a KHSO_4 solution (3%; 20 mL) at the same temperature. The THF layer was collected and aqueous phase was extracted with EtOAc (4×30 mL). Combined organic layers were dried over MgSO_4 and evaporated under reduced pressure to afford the crude residue, which was purified by flash chromatography.

N^α-Boc-*N*^δ, *N*^ε-(Cbz)₂-Arg-CHO 152a



Product **152a** was synthesised following the general procedure for the reduction (reaction time 1.5 h) using:

- 167** (443 mg, 0.76 mmol)
- LiAlH_4 (72 mg, 1.90 mmol, 2.5 eq)
- THF (15 mL)
- KHSO_4 (3%; 10 mL)

Product **152a** was obtained after purification by flash chromatography (short length, 5 cm) using EtOAc/cyclohexane 3/7 as a white solid (302 mg, 0.57 mmol, **75%**).

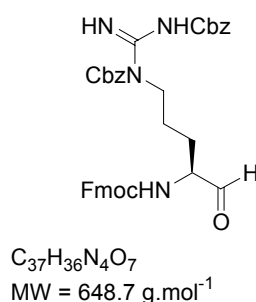
TLC R_f = 0.35 (EtOAc/cyclohexane : 3/7).

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.45 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 1.59-1.86 (m, 3H, CH₂-C), 2.02-2.09 (m, 1H, CH₂-C), 3.99 (m, 2H, CH₂-N), 4.15 (m, 1H, CH_α), 5.16 (s, 2H, CH₂ Cbz), 5.26 (s, 2H, CH₂ Cbz), 5.55 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, NH), 7.28-7.46 (m, 10H, CH_{ar}), 9.28 (bs, 1H, NH), 9.44 (bs, 1H, NH), 9.50 (s, 1H, CHO).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 24.5 (CH₂-C), 25.5 (CH₂-C), 28.0 (3 CH₃), 44.1 (CH₂-N), 59.3 (CH_α), 67.0 (CH₂ Cbz), 69.0 (CH₂ Cbz), 79.9 (O-C-(CH₃)₃), 127.9, 128.4, 128.8 (10 CH_{ar}), 134.7, 136.8 (2 C_{ipso} Cbz), 155.8, 155.9 (2 NHCOO Cbz), 160.6 (NHCOO Boc), 163.7 (NHCNHN), 200.3 (CHO).

OR : $[\alpha]_D^{21} = +9.8$ (c = 1.00, CHCl₃)

N^α-Fmoc-N^δ,N^ε-(Cbz)₂-Arg-CHO 152b



Product **152b** was synthesised following the general procedure for the reduction (reaction time 1 h), using:

- 168** (474 mg, 0.67 mmol)
- LiAlH₄ (64 mg, 1.67 mmol, 2.5 eq)
- THF (10 mL)
- KHSO₄ (3%; 10 mL)

Product **24a** was obtained after purification by flash chromatography (short length, 5 cm) using EtOAc/cyclohexane 3/7 as a white solid (248 mg, 0.38 mmol, **57%**).

TLC *R_f* = 0.62 (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

IR (KBr) : ν = 740, 1005, 1100, 1250, 1505, 1605, 1690, 1720, 2940, 3390 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.62-1.71 (m, 3H, CH₂-C), 1.80-1.85 (m, 1H, CH₂-C), 3.85 (m, 2H, CH₂-N), 4.15 (m, 2H, CH Fmoc+ CH_α), 4.43 (m, 2H, CH₂ Fmoc), 5.10 (s, 2H, CH₂ Cbz),

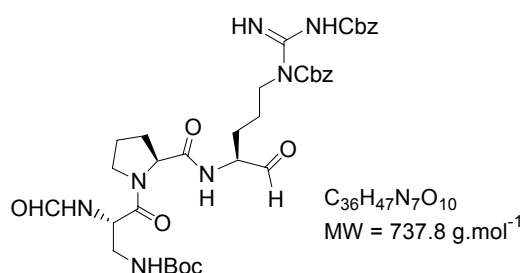
5.25 (s, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$ Cbz), 6.14 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, $\underline{\text{NH}}$), 7.25-7.39 (m, 14H, $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$), 7.58 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$ Fmoc), 7.76 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$ Fmoc), 9.30 (bs, 1H, $\underline{\text{NH}}$), 9.48 (bs, 1H, $\underline{\text{NH}}$), 9.51 (s, 1H, $\underline{\text{CHO}}$).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 24.9 ($\underline{\text{CH}_2\text{-C}}$), 26.9 ($\underline{\text{CH}_2\text{-C}}$), 43.9 ($\underline{\text{CH}_2\text{-N}}$), 47.2 ($\underline{\text{CH}}$ Fmoc), 59.7 ($\underline{\text{CH}_\alpha}$), 66.5 (CH_2 Fmoc), 67.0 (CH_2 Cbz), 69.0 (CH_2 Cbz), 120.0 (4 $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$), 125.0 (2 $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$), 127.0, 127.7, 127.9, 128.0, 128.4, 128.9 (12 $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$), 134.5, 136.6 (2 $\underline{\text{C}_{\text{ipso}}}$ Cbz), 141.4 (2 $\underline{\text{C}_{\text{ipso}}}$ Fmoc), 143.7, 143.8 (2 $\underline{\text{C}_{\text{ipso}}}$ Fmoc), 155.7, 156.3 (2 NHCOO Cbz), 160.5 (NHCOO Fmoc), 163.5 (NHCNHN), 200.0 ($\underline{\text{CHO}}$).

ESI-MS : $m/z = 671$ $[\text{MNa}]^+$, 649 $[\text{MH}]^+$.

OR : $[\alpha]_D^{25} = +4.4$ ($c = 1.10$, CHCl_3)

$N^{\text{L}}\text{-Boc-}N^{\text{a}}\text{-CHO-Dpr-Pro-}N^{\text{D}}, N^{\text{E}}\text{-(Cbz)}_2\text{-Arg-CHO}$ **157**



Product **157** was synthesised following the general procedure for the reduction (reaction time 50 min), using:

- 191** (305 mg, 0.38 mmol)
- LiAlH₄ (22 mg, 0.57 mmol, 1.5 eq)
- THF (10 mL)
- KHSO₄ (3%; 10 mL)

Product **157** was obtained after purification by flash chromatography (short length, 5 cm) using $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} : 95/5$ as an oil (158 mg, 0.21 mmol, **56%**).

TLC $R_f = 0.18$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} : 95/5$).

IR (KBr) : $\nu = 699, 1005, 1099, 1171, 1254, 1384, 1446, 1514, 1612, 1649, 1716, 2977, 3390$ cm^{-1} .

^1H NMR (acetone- d_6) δ (ppm) : 1.33 (s, 9H, O-C-($\underline{\text{CH}_3}$)₃), 1.44-1.78 (m, 6H, $\underline{\text{CH}_2}$ Pro+Arg), 1.81-1.92 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$ Pro+Arg), 3.28 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}}$ Dpr), 3.58 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}}$ Pro), 3.92 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{N}}$ Arg), 4.41 (bs, 1H, $\underline{\text{CH}_\alpha}$ Pro), 4.90 (bs, 1H, $\underline{\text{CH}_\alpha}$ Arg), 4.94 (bs, 1H, $\underline{\text{CH}_\alpha}$ Dpr),

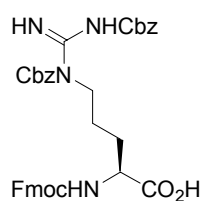
5.06 (s, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$ Cbz), 5.14 (s, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$ Cbz), 6.48 (bs, 1H, $\underline{\text{NH}}$), 7.18-7.43 (m, 12H, $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}+2}$ $\underline{\text{NH}}$), 8.02 (s, 1H, $\text{NH}\underline{\text{CHO}}$), 9.19-9.42 (bs, 3H, 2 $\underline{\text{NH}}$).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 24.8, 25.0 (2 $\underline{\text{CH}_2}$ Pro+Arg), 28.4 (3 $\underline{\text{CH}_3}$), 29.2, 29.3 (2 $\underline{\text{CH}_2}$ Pro+Arg), 40.4 ($\underline{\text{CH}_2\text{N}}$, Dpr), 44.4 ($\underline{\text{CH}_2\text{N}}$, Arg), 47.6 ($\underline{\text{CH}_2\text{N}}$, Pro), 50.0 ($\underline{\text{CH}_\alpha}$, Dpr), 57.1 ($\underline{\text{CH}_\alpha}$, Arg), 60.4 ($\underline{\text{CH}_\alpha}$, Pro), 66.4 ($\underline{\text{CH}_2}$, Cbz), 68.9 ($\underline{\text{CH}_2}$, Cbz), 79.3 ($\text{O}-\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_3$), 127.9, 128.3, 128.8 (10 $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$), 134.9, 136.7 (2 $\underline{\text{C}_{\text{ipso}}}$ Cbz), 155.8, 156.4 (2 $\text{NH}\underline{\text{COO}}$, Cbz), 160.5 ($\text{NH}\underline{\text{COO}}$, Boc), 161.3 ($\text{NH}\underline{\text{CHO}}$), 163.7 ($\text{NHC}\underline{\text{NHN}}$), 169.9 ($\text{NH}\underline{\text{CO}}$, Dpr), 171.2 ($\text{NH}\underline{\text{CO}}$, Pro), 201.0 ($\underline{\text{CHO}}$).

ESI-MS : m/z = 760 $[\text{MNa}]^+$, 738 $[\text{MH}]^+$, 530 $[\text{MH}-\text{C}_7\text{H}_8\text{O}]^+$.

OR : $[\alpha]_D^{25} = +8.5$ ($c = 1.20$, CHCl_3)

N^{G} -Fmoc- N^{D} , N^{E} -(Cbz) $_2$ -Arg **220**



$\text{C}_{37}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_8$,
MW = 664.7 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Product **220** was synthesised following the general Boc to Fmoc procedure, using :

- 162** (300 mg, 0.55 mmol)
- CH_2Cl_2 -TFA (14 mL)
- Na_2CO_3 (10%; 7 mL)
- dioxane (10 mL)
- FmocCl (157 mg, 0.61 mmol, 1.1 eq)

Product **220** was obtained after purification by flash chromatography using a gradient of EtOAc/MeOH : from 100/0 to 9/1 as a white solid (250 mg, 0.38 mmol, **68%**).

MP = 36-38 °C (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

TLC R_f = 0.50 (EtOAc/MeOH : 95/5).

IR (KBr) : ν = 740, 1102, 1258, 1379, 1502, 1611, 1723, 3066, 3393 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 1.60-1.80 (m, 3H), 1.81-1.90 (m, 1H), 3.95 (m, 2H), 4.18 (bs, 1H), 4.41 (m, 2H), 4.43 (bs, 1H), 5.10 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 6.03 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.20-7.41 (m, 18H), 9.20-9.40 (m, 2H).

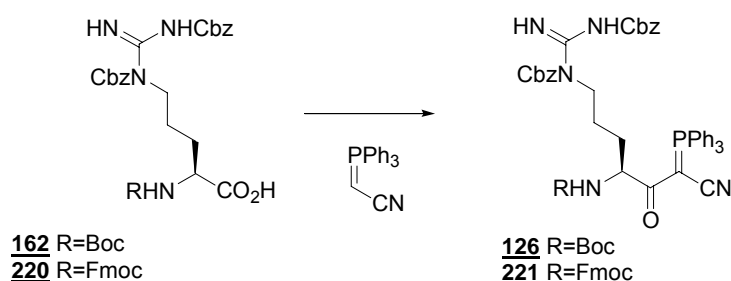
^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 24.9 (CH_2), 28.6 (CH_2), 44.2 (CH_2), 47.2 (CH), 53.7 (CH), 67.0 (CH_2), 67.1 (CH_2), 68.9 (CH_2), 119.9 (2 CH), 125.1 (CH), 127.0, 127.6, 127.8, 128.3, 128.7 (15 CH), 134.7, 136.6 (2 C), 141.3, 141.4 (2 C), 143.8, 144.0 (2 C), 155.7, 156.3 (2 C), 160.5 (C), 163.7 (C), 174.7 (C).

ESI-MS : m/z = 687 $[\text{MNa}]^+$, 665 $[\text{MH}]^+$.

OR : $[\alpha]_D^{21} = +5.4$ ($c = 1.25$, CHCl_3).

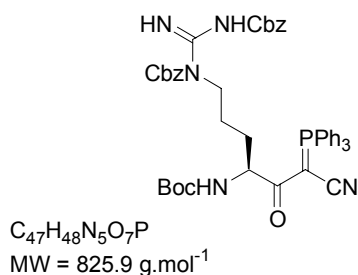
EA : Calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_8$: C, 67.86 ; H, 5.46; N, 8.43; Found: C, 67.68 ; H, 5.48; N, 8.58.

General procedure for coupling reaction with (triphenylphosphoranylidene)acetonitrile



A carboxylic acid (1 mmol) was dissolved in CH_2Cl_2 (25 mL) under argon and cooled at 0°C in an ice bath. 4-Dimethylaminopyridine (0.1 mmol, 0.1 eq) and EDCi (1.1 mmol, 1.1 eq) were successively added to the reaction mixture which was stirred for a further 5 min. Then (triphenylphosphoranylidene)acetonitrile (1.2 mmol, 1.2 eq) was added in one portion and the reaction was stirred and allowed to warm to rt over a specified period. Water (40 mL) was added and the mixture was extracted with CH_2Cl_2 (3×30 mL). The combined organic layers were dried over MgSO_4 and evaporated under reduced pressure to afford the crude residue, which was purified by flash chromatography.

N^{α} -Boc- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz) $_2$ -Arg-C(PPh $_3$)CN **126**



Product **126** was synthesised following the general procedure for coupling reaction with (triphenylphosphoranylidene)acetonitrile (reaction time of 12 h), using:

- 162** (700 g, 1.3 mmol)
- DMAP (16 mg, 0.13 mmol, 0.1 eq)
- EDCi (272 mg, 1.4 mmol, 1.1 eq)
- CH₂Cl₂ (40 mL)
- (triphenylphosphoranylidene)acetonitrile (466 mg, 11.5 mmol, 2 eq)

Product **126** was obtained after purification by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 3/7 to 4/6 as a white foam (832 mg, 1.01 mmol, 77%).

MP = 74-77 °C.

TLC R_f = 0.29 (EtOAc/cyclohexane : 4/6).

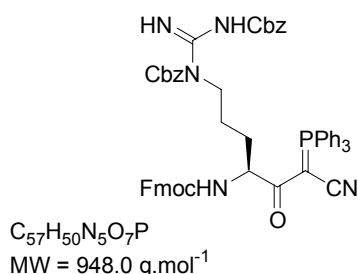
IR (KBr) : ν = 1150, 1273, 1507, 1596, 1705, 2364 (CN), 2867, 2945, 3425 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.32 (s, 9H), 1.51-1.69 (m, 3H), 1.70-1.79 (m, 1H), 3.86 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 5.00 (bs, 1H), 5.03 (s, 2H), 5.16 (s, 2H), 5.19 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.15-7.56 (m, 25H), 9.31 (bs, 1H), 9.52 (bs, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 24.9 (CH₂), 28.4 (3 CH₃), 30.4 (CH₂), 44.7 (CH₂), 47.3 (d, J = 130 Hz, C), 56.0 (CH), 67.1 (CH₂), 68.8 (CH₂), 79.0 (C), 120.9 (d, J = 15 Hz, C), 121.3 (d, J = 88 Hz, 3 C), 127.6, 128.3, 128.8, 129.3, 133.2, 133.5 (25 CH), 134.8, 137.0 (2 C), 155.6, 156.0 (2 C), 160.7 (C), 164.0 (C), 194.6 (C).

EA : Calcd for C₄₇H₄₈N₅O₇P.H₂O : C, 66.89 ; H, 5.97; N, 8.30; Found: C, 67.28 ; H, 6.03; N, 8.42.

N^u-Fmoc-N^δ, N^ε-(Cbz)₂-Arg-C(PPh₃)CN 221



Product **221** was synthesised following the general procedure for coupling reaction with (triphenylphosphoranylidene)acetonitrile (reaction time of 5 h), using:

- 220** (2.0 g, 3.0 mmol)
- DMAP (37 mg, 0.3 mmol, 0.1 eq)

-EDCi (634 mg, 3.3 mmol, 1.1 eq)

-CH₂Cl₂ (100 mL)

-(triphenylphosphoranylidene)acetonitrile (1.091 g, 3.6 mmol, 1.2 eq)

Product **221** was obtained after purification by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 1/1 to 100/0 as a white solid (1.160 g, 1.22 mmol, **41%**). The desired compound was crystallised from EtOAc/cyclohexane (1/1).

MP (°C) = 105-107 °C (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

TLC R_f = 0.40 (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

IR (KBr) : ν = 1103, 1252, 1380, 1441, 1510, 1607, 1720, 2177 (CN), 2929, 3394 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.75-1.85 (m, 3H), 2.06 (bs, 1H), 3.77 (bs, 1H), 3.94 (m, 2H), 4.07 (dd, J = 7.9 and 17.8 Hz, 1H), 4.17 (dd, J = 7.9 and 17.8 Hz, 1H), 4.83 (bs, 1H), 4.92 (s, 2H), 4.98 (d, J = 6.6 Hz, 2H), 5.61 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.00-7.60 (m, 33H), 9.11 (bs, 1H), 9.39 (bs, 1H).

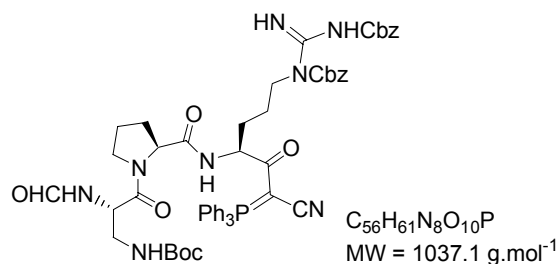
¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 24.6 (CH₂), 30.7 (CH₂), 44.7 (CH₂), 47.2 (CH), 47.6 (d, J = 125 Hz, C), 56.3 (CH), 66.8 (CH₂), 67.2 (CH₂), 68.9 (CH₂), 120.0 (4 CH), 120.7 (d, J = 15 Hz, C), 122.5 (d, J = 93 Hz, 3 C), 124.9 (2 CH), 125.4, 127.1, 127.7, 128.2, 128.4, 128.8, 129.2, 133.6 (27 CH), 134.8, 137.0 (2 C), 141.3, 144.0, 144.2 (4 C), 155.9, 156.0 (2 C), 160.7 (C), 164.0 (C), 193.8 (C).

ESI-MS : m/z = 986 [MK]⁺, 970 [MNa]⁺, 948 [MH]⁺, 840 [MH-(Bn-OH)]⁺.

OR : $[\alpha]_D^{21}$ = +28.8 (c = 1.00, CHCl₃).

EA : Calcd for C₅₇H₅₀N₅O₇P : C, 72.22 ; H, 5.32; N, 7.39; Found: C, 72.35 ; H, 5.47; N, 7.57.

N^δ-Boc-N^α-CHO-Dpr-Pro-N^δ, N^ε-(Cbz)₂-Arg-C(PPh₃)CN 159



Product **159** was synthesised in two steps, firstly following the general procedure for Fmoc group removal, using:

-**221** (90 mg, 0.09 mmol)

-NHET₂ (2.4 mL, 231 eq)

-CH₃CN (5 mL)

The crude (90 mg, quant.) was used without further purification for the next step according to main part of the general procedure for peptide coupling reaction using EDCi/DMAP (reaction time of 12 h), using:

-**crude** amine (90 mg, 0.09 mmol, 1.0 eq) added as the last component

-dipeptide **160** (41 mg, 0.12 mmol, 1.3 eq)

-DMAP (3 mg, 0.002 mmol, 0.2 eq)

-EDCi (29 mg, 0.15 mmol, 1.6 eq)

-CH₂Cl₂ (5 mL)

The crude of the reaction was washed successively with water (5 mL) and a saturated NaCl solution (5 mL) then dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to furnish the crude (125 mg). The desired product **159** was obtained after purification by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 100/0 to 9/1 as a white solid (74 mg, 0.07 mmol, **75%**). The same product was synthesised, following the same procedure, on a larger scale (1-3 g) with poorer yield **45-51%**.

MP = 83-85 °C.

TLC *R_f* = 0.40 (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.21 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 1.41-1.76 (m, 4H, CH₂ Pro+Arg), 1.79-1.98 (m, 4H, CH₂ Pro+Arg), 2.79 (td, *J* = 7.0 and 13.5 Hz, 1H, CH₂N Dpr), 3.11 (td, *J* = 6.7 and 13.5 Hz, 1H, CH₂N Dpr), 3.55 (m, 2H, CH₂N Pro), 3.93 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂N Arg), 4.30 (dd, *J* = 3.5 and 8.3 Hz, 1H, CH_α Pro), 4.85 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H, CH_α Dpr), 4.96 (s, 2H, CH₂ Cbz), 5.00 (m, 1H, CH_α Arg), 5.19 (s, 2H, CH₂ Cbz), 6.02 (bs, 1H, ^βNH Dpr), 6.60 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, ^αNH Dpr), 6.79 (bs, 1H, NH Arg), 7.15-7.70 (m, 25H, CH_{ar}), 7.97 (s, 1H, NHCHO), 9.20 (bs, 1H, NH), 9.38 (bs, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 24.6, 24.8 (2 CH₂, Pro+Arg), 28.3 (3 CH₃), 29.1 (CH₂, Pro), 30.2 (CH₂, Arg), 42.8 (CH₂N, Dpr), 45.6 (CH₂N, Arg), 47.5 (CH₂N, Pro), 48.1 (d, *J* = 127 Hz, C=P), 49.0 (CH_α, Dpr), 54.6 (CH_α, Arg), 60.8 (CH_α, Pro), 67.1 (CH₂, Cbz), 68.9 (CH₂, Cbz), 79.2 (O-C-(CH₃)₃), 120.3 (d, *J* = 15 Hz, CN), 122.5 (d, *J* = 93 Hz, 3 C_{ipso}-P), 127.8, 127.9, 128.0, 128.2, 128.3, 128.4, 128.6, 128.8, 129.2, 129.3, 133.4, 133.6 (25 CH_{ar}), 134.9, 136.8 (2 C_{ipso}, Cbz), 156.0, 156.5 (2 NHCOO, Cbz), 160.6 (NHCHO), 160.7 (NHCOO, Boc), 164.1 (NHCNHN), 169.4 (NHCO, Dpr), 170.6 (NHCO, Pro), 193.6 (CO).

ESI-MS : *m/z* = 1037 [MH]⁺.

OR : $[\alpha]_D^{22} = -3.1$ (c = 1.85, CHCl₃).

EA : Calcd for $C_{56}H_{61}N_8O_{10}P$: C, 64.85 ; H, 5.93; N, 10.80; Found: C, 64.25 ; H, 6.05; N, 10.97.

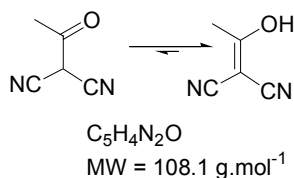
HR-MS : m/z Calcd for $[C_{56}H_{61}N_8O_{10}P+H]^+$ 1037.4327, Found 1037.4294 (-3.1 ppm).

LC-MS : $m/z = 1037 [MH]^+$, Pure product was analysed by reversed-phase HPLC using a C_{18} column and a mobile phase gradient from CH_3CN/H_2O 1/9 to 9/1, $t_R = 21.4$ min.

After one week storage in the fridge, we obtained a mixture of two products :

LC-MS : $m/z = 1037 [MH]^+$, Two diastereoisomers were analysed by reversed-phase HPLC using a C_{18} column and a mobile phase gradient from CH_3CN/H_2O 1/9 to 9/1, $t_{R1} = 21.4$ min and $t_{R2} = 21.8$ min.

2-(1-hydroxy-ethylidene)malonodinitrile 228



Malononitrile **227** (13.22 g, 0.20 mol) was dissolved in DMF (20 mL) at rt under argon. Sodium carbonate (25.44 g, 0.24 mol, 1.2 eq) was added in one portion and the reaction mixture was stirred briskly for 1 h. This reaction mixture was cooled to 0 °C and acetic anhydride (30 mL, 0.32 mol, 1.6 eq) was added dropwise over 15 min (strong bubbling). The mixture was stirred and allowed to warm to rt over 24 h. The crude mixture was filtered and the mother liquor was poured into water (200 mL) and washed with CH_2Cl_2 (6×50 mL). The aqueous phase (pH 12) was acidified with a HCl solution (1 M) to pH 3. The solution was then evaporated under reduced pressure to afford the crude (18.00 g) which was washed successively with CH_2Cl_2 (2×50 mL) and EtOAc (2×50 mL) to afford the pure desired product **228** (11.20 g, 0.103 mol, **52%**), as a beige solid.

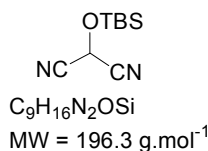
MP = 188-193 °C.

TLC $R_f = 0.40$ (EtOAc/MeOH : 9/1).

1H NMR (DMSO- d_6) δ (ppm) : 2.20 (s, 3H, CH₃), 10.00-11.00 (bs, 1H, OH).

^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ (ppm) : 25.5 (CH₃), 46.7 (C-(CN)₂), 120.9 (CN), 123.2 (CN), 189.7 (C).

α -(*t*-Butyldimethylsilyloxy)malononitrile 154



Compound **228** (1.00 g, 9.2 mmol) was dissolved in water (24 mL) and treated with an acetic peracid solution in glacial acetic acid (9 WT%; 24 mL, 31.9 mmol, 3.4 eq) at rt for 2 h (the pale yellow solution became clearer). This reaction mixture was poured in water (20 mL) washed with CH_2Cl_2 (2×20 mL) and the aqueous layer was then extracted with EtOAc (4×20 mL). The combined organic layers were dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure (caution: during concentration, keep below 35 °C) to afford the crude alcohol **229** as a colourless liquid which was directly dissolved in CH_2Cl_2 (20 mL), under argon and cooled to 0 °C. At this temperature, imidazole (2.085 g, 13.9 mmol, 1.5 eq) was added followed by *t*-butyldimethylchlorosilane (941 mg, 13.9 mmol, 1.5 eq) and the reaction mixture was stirred for 10 min (white suspension appeared). This reaction mixture was then washed with water (5 mL) followed by a citric acid solution (5%; 5mL). The organic phase was dried over MgSO_4 and evaporated under reduced pressure (caution: during concentration, keep below 35 °C, volatile compound) to afford the crude residue as a pale yellow liquid which was purified by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane (1/9; caution: during concentration) to afford the pure desired product **154** (1.40 g, 7.1 mmol, 77%) as a colourless extremely volatile liquid. This product could be stored for a couple of weeks in the fridge.

TLC R_f = 0.40 (EtOAc/cyclohexane : 1/9).

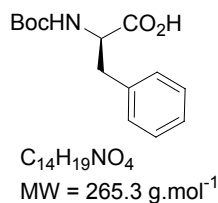
^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 0.02 (s, 6H, Si-(CH_3)₂), 0.93 (s, 9H, Si-C-(CH_3)₃), 5.30 (s, 1H, $\text{CH}-(\text{CN})_2$).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : -4.0 (2 CH_3 -Si), 25.3 (3 CH_3 -C-Si), 50.7 ($\text{CH}-(\text{CN})_2$), 112.1 (2 CN).

EI-MS : m/z = 196 [$\text{M}]^+$ (10), 139 [$\text{M}-\text{C}_4\text{H}_9$] $^+$ (50), 111 (30), 84 (100), 57 (80).

VII.4. Experimental Procedures chapter IV

N-Boc-D-Phe 238



D-Phenylalanine (3.336 g, 20.2 mmol) was dissolved in water (180 mL) and a solution of sodium hydroxide (1 M; 20 mL) was added slowly. This solution was stirred and cooled to 0 °C with an ice bath over 10 min, then a solution of Boc₂O (5.280 g, 24.2 mmol, 1.2 eq) in dioxane (200 mL) was added slowly. The mixture was stirred and allowed to warm to rt over 5 h. The mixture was acidified to pH 2 by slow addition of a solution of HCl (2 M) and extracted with EtOAc (3×30 mL). The organic layers were collected, dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure. Compound **238** (4.906 g, 19.4 mmol, **96%**) was obtained as a colorless amorphous solid which was used without further purification.

TLC R_f = 0.45 (EtOAc).

IR (CHCl₃): ν = 760, 1230, 1716, 2974, 3280 cm⁻¹.

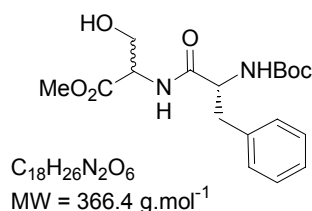
¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.42 (s, 9H), 3.07 (dd, J = 14.0 and 6.0 Hz, 1H), 3.19 (dd, J = 14.0 and 6.0 Hz, 1H), 4.12 (m, 1H), 5.06 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.20-7.39 (m, 5H), 10.31 (bs, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 28.0 (3 CH₃), 37.7 (CH₂), 54.4 (CH), 80.2 (C), 127.1 (CH), 128.5 (2 CH), 129.5 (2 CH), 136.0 (C), 155.4 (C), 176.3 (C).

EI-MS : m/z = 265 (2), 220 (10), 189 (50), 160 (100), 133 (80), 91 (55).

OR : $[\alpha]_D^{21} = -32.0$ (c = 2.05, CHCl₃).

***N*-Boc-*D*-Phe-*DL*-Ser-OMe 239**



Compound **238** (7.826 g, 29.5 mmol) was dissolved in anhydrous CH₂Cl₂ (32 mL) and cooled to -20 °C under argon. isobutylchloroformate (4.17 mL, 32.4 mmol, 1.1 eq) was added dropwise, followed by triethylamine (4.51 mL, 32.4 mmol, 1.1 eq) to prepare solution A. After 30 min at -20 °C, solution A became white (ammonium salt). At the same time, Ser-

OMe.HCl (5.500 mg, 35.4 mmol, 1.2 eq) was dissolved in CH₂Cl₂ (62 mL) and triethylamine (5.74 mL, 41.3 mmol, 1.4 eq) was added at rt. This mixture was added to solution A and the resulting mixture was stirred whilst warming to rt over 6 h.

The reaction mixture was filtered and the white solid washed with CH₂Cl₂. The combined filtrates were washed successively with a saturated NaHCO₃ solution (140 mL), a citric acid solution (5%; 180 mL) and a saturated NaHCO₃ solution (140 mL). The organic layer was dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to afford an oily crude residue (10.542 g) which was purified by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane (1/1) to yield the desired product **239**, as a white powder (9.450 g, 25.8 mmol, **87%**).

TLC R_f = 0.30 (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

IR (neat): ν = 1750, 1780, 2950, 3350 cm⁻¹.

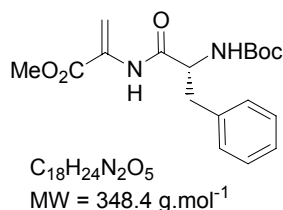
¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.45 (s, 9H), 2.50 (bs, 1H), 3.09 (dd, J = 14.0 and 7.0 Hz, 1H), 3.13 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.89 (m, 2H), 4.43 (m, 1H), 4.58 (m, 1H), 5.31 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.05 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.22-7.45 (m, 5H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 28.2 (3 CH₃), 38.6 (CH₂), 52.6 (CH), 54.6 (CH₃), 55.9 (CH), 62.1 (CH₂), 80.2 (C), 126.9 (CH), 128.6 (2 CH), 129.3 (2 CH), 136.6 (C), 155.6 (C), 170.7 (C), 171.2 (C).

CI-MS : m/z = 633 [2MH]⁺, 367 [MH]⁺, 267 [MH-Boc]⁺.

OR : $[\alpha]_D^{21} = +14.1$ (c = 1.20, CHCl₃).

N-Boc-D-Phe-ΔAla-OMe 234



Compound **239** (3.775 g, 10.31 mmol) was dissolved in CH₂Cl₂ (121 mL) under argon and freshly prepared CuCl (1.230 g, 12.37 mmol, 1.2 eq) was added in one portion to afford a white suspension. After 5 min EDCi (2.373 g, 12.37 mmol, 1.2 eq) was added and the suspension became clear and the solution turned green. The solution was stirred for 2 h at rt, turning brown during this time. The reaction mixture was then concentrated under reduced pressure and EtOAc/H₂O (1/1, 40 mL) was added to the residue.

The organic layer was separated and the aqueous layer (turquoise blue) was extracted with EtOAc (3×25 mL). Combined organic layers were washed with a citric acid solution (5%; 2×80 mL) to leave a colorless organic phase which was dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude product (3.123 g) which was recrystallized from EtOH/H₂O : 4/6 to yield the desired product **234**, as a white powder (2.877 g, 8.26 mmol, **80%**).

MP = 100-102 °C (EtOH/H₂O).

TLC R_f = 0.80 (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

IR (neat) : ν = 745, 1270, 1765, 2965, 3020 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.42 (s, 9H), 3.18 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 4.56 (m, 1H), 5.18 (m, 1H), 5.92 (s, 1H), 6.63 (s, 1H), 7.22-7.37 (m, 5H), 8.25 (m, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 28.1 (3 CH₃), 38.1 (CH₂), 52.8 (CH), 56.4 (CH₃), 81.0 (C), 109.2 (CH₂), 126.9 (CH), 128.6 (2 CH), 129.3 (2 CH), 130.5 (C), 136.2 (C), 155.5 (C), 163.7 (C), 170.2 (C).

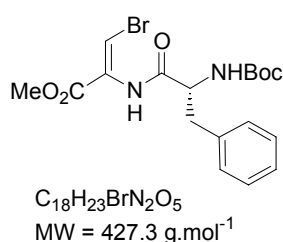
CI-MS : m/z = 349 [MH]⁺, 249 [MH-Boc]⁺.

HR-MS : m/z Calcd for [C₁₈H₂₄N₂O₅+Na]⁺ 371.1583, found 371.1589.

OR : $[\alpha]_D^{21} = +19.8$ (c = 1.20, CHCl₃).

EA : Calcd for C₁₈H₂₄N₂O₅ : C, 62.05 ; H, 6.94 ; N, 8.04; Found : C, 61.96 ; H, 6.91; N, 7.97.

(Z) N-Boc-D-Phe-(β -bromo)- Δ Ala-OMe **235**



Alkene **234** (870 mg, 2.50 mmol) was dissolved in CH₂Cl₂ (25 mL) under argon and *N*-bromosuccinimide (467 mg, 2.62 mmol, 1.05 eq) was added. The reaction was stirred at rt for 5 h, then triethylamine (700 μ L, 5.0 mmol, 2.0 eq) was added. The mixture was stirred for a further 3 h and then was quenched with water (20 mL). The organic layer was collected and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Combined organic extracts were dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to furnish the oily crude (1.190 g). This residue was purified by flash chromatography using a gradient (EtOAc/cyclohexane

from 2/8 to 3/7). Recrystallization from Et₂O furnished pure **235**, as a white powder (905 mg, 2.12 mmol, **85%**).

MP = 37-39 °C (Et₂O).

TLC R_f = 0.45 (EtOAc/cyclohexane : 3/7).

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.41 (s, 9H), 2.99 (dd, J = 12.0 and 6.0 Hz, 1H), 3.09 (dd, 1 J = 12.0 and 6.0 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 4.51 (m, 1H), 5.08 (bs, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.17-7.34 (m, 5H), 7.73 (bs, 1H).

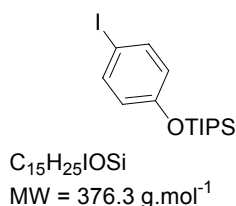
¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 28.2 (3 CH₃), 37.7 (CH₂), 52.8 (CH₃), 55.4 (CH), 80.5 (C), 113.4 (CH), 127.0 (CH), 128.7 (2 CH), 130.0 (2 CH), 131.9 (C), 136.3 (C), 155.8 (C), 162.3 (C), 170.1 (C).

CI-MS : m/z = 427 and 429 [MH]⁺, 327 and 329 [MH-Boc]⁺.

HR-MS : m/z Calcd for [C₁₈H₂₃BrN₂O₅+Na]⁺ 449.0688, found 449.0710 (+4.9 ppm).

EA : Calcd for C₁₈H₂₃BrN₂O₅ : C, 50.60; H, 5.43; N, 6.56; Found : C, 50.44; H, 5.55; N, 6.44.

Protected *p*-iodophenol 232



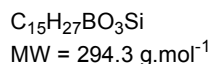
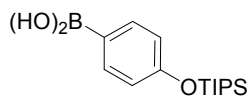
p-Iodophenol **241** (1.76 g, 8.0 mmol) was dissolved under argon in CH₂Cl₂ (50 mL) at 0 °C and imidazole (2.40 g, 35.2 mmol, 4.4 eq) was added. Stirring was continued for 10 min then triisopropylchlorosilane (4.0 mL, 23.2 mmol, 2.9 eq) was added. Stirring was continued whilst the mixture was allowed to warm to rt over 6 h. The resulting solution was washed with water (2×30 mL), dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude (5.010 g), which was purified by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane 2/8 to afford the desired compound **232** (2.920 g, 7.8 mmol, **97%**) as a colorless liquid.

BP = 90-95 °C (1.5 mm Hg).

TLC R_f = 0.68 (EtOAc/cyclohexane : 3/7).

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.12 (d, J = 6.5 Hz, 18H), 1.25 (hept, J = 6.5 Hz, 3H), 6.68 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.50 (d, J = 6.0 Hz, 2H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 12.7 (3 CH), 17.7 (6 CH₃), 83.3 (C), 122.1 (2 CH), 138.4 (2 CH), 156.0 (C).

p-Silyloxyphenylboronic acid 233

p-Iodophenylsilyl ether **232** (2.821 g, 7.5 mmol) was dissolved in THF (25 mL) and cooled at -78°C under argon. Butyllithium solution (1.6 M in hexanes; 5.6 mL, 9 mmol, 1.2 eq) was added slowly over 15 min and the reaction mixture was stirred for a further 10 min. Tri-*i*-propyl borate (5.2 mL, 22.5 mmol, 3 eq) was added slowly and the reaction mixture was stirred at -78°C for a further 30 min then at rt for 1 h. The reaction was quenched at 0°C with a solution of HCl (2 M; 10 mL) to obtain pH 1 then partially concentrated under reduced pressure. The resulting aqueous phase was extracted with CH_2Cl_2 (3×20 mL). Combined organic layers were washed with water (25 mL), dried over MgSO_4 and evaporated under reduced pressure to furnish the crude (2.045 g). This crude was purified by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane 2/8 as eluant to afford the desired pure product **233** (1.280 g, 4.3 mmol, **58%**).

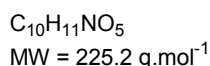
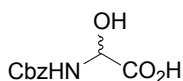
MP = $218\text{--}222^\circ\text{C}$.

TLC R_f = 0.22 (EtOAc/cyclohexane : 3/7).

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 1.09 (d, J = 7.5 Hz, 18H), 1.19 (hept, J = 7.5 Hz, 3H), 6.82 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 8.14 (d, J = 8.4 Hz, 2H).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 12.8 (3CH), 18.9 (6CH₃), 119.8 (2 CH), 137.5 (2 CH), 159.8 (C).

EI-MS : m/z = 250 [M-B(OH)_2]⁺ (30), 207 (95), 179 (50), 151 (100), 137 (75).

N-Cbz-Gly(α -OH)-OMe 250

A mixture of benzyl carbamate (30.23 g, 0.2 mol) and glyoxylic acid monohydrate (20.25 g, 0.22 mol, 1.1 eq) in ether (200 mL) was stirred at rt overnight. The resulting crystalline

precipitate was filtered and washed with ether to afford the desired product **250** (32.912 g, 0.15 mol, **73%**) which was used without further purification.

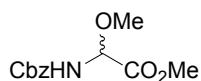
MP = 198 °C.

IR (neat): ν = 694, 891, 1245, 1265, 1452, 1696, 1731, 3328 cm^{-1} .

^1H NMR (DMSO- d_6) δ (ppm) : 5.12 (s, 2H), 5.28 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.29 (bs, 1H), 7.42 (m, 5H), 8.12 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 12.81 (bs, 1H).

^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ (ppm) : 65.5 (CH_2), 73.1 (CH), 127.8 (CH), 128.3 (2 CH), 129.2 (2 CH), 136.8 (C), 155.5 (C), 171.0 (C).

N*-Cbz-(α -OMe)-Gly-OMe **251*



$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_5$
MW = 253.2 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

To an ice bath cooled and stirred solution of *N*-Cbz-Gly(α -OH)-OMe **250** (12.59 g, 56 mmol) in methanol (132 mL) was added slowly concentrated H_2SO_4 (65%; 1.70 mL). The mixture was stirred for 2 days at rt, then poured into an ice-cold solution of NaHCO_3 (300 mL), which was stirred for 1 h. The precipitate was filtered and dried overnight in *vacuo* over P_2O_5 to afford directly the desired compound **251** (13.161 g, 52 mmol, **93%**) which was used without further purification.

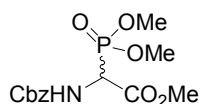
MP (°C) = 79-80 °C.

TLC R_f = 0.68 (EtOAc/cyclohexane : 6/4).

IR (KBr): ν = 740, 981, 1103, 1265, 1690, 2950, 3025, 3310 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 3.32 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 5.05 (s, 2H), 5.28 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.88 (bs, 1H), 7.25-7.31 (m, 5H).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 52.9 (CH_3), 56.3 (CH_3), 67.4 (CH_2), 80.6 (CH), 128.2 (CH), 128.4 (2CH), 128.6 (2CH), 135.8 (C), 155.7 (C), 168.0 (C).

N-Cbz-(α -PO(OMe)₂)-Gly-OMe 252

C₁₃H₁₈NO₇P
MW = 331.3 g.mol⁻¹

The *N*-Cbz-(α -OMe)-Gly-OMe **251** (11.42 g, 45.1 mmol, 1.0 eq) was dissolved in toluene (50 mL) under argon at 70 °C then phosphorus trichloride (4.12 mL, 47.3 mmol, 1.05 eq) was added dropwise over 10 min. The reaction mixture was stirred at 80 °C for 18 h, then trimethyl phosphite (5.60 mL, 47.3 mmol, 1.05 eq) was added dropwise and stirring was continued for a further 4 h. The solution was concentrated under reduced pressure and digested with EtOAc (200 mL). The resulting solution was washed with a saturated NaHCO₃ solution (2×80 mL), dried over MgSO₄ and evaporated to provide the crude. This crude solid was digested with EtOAc/cyclohexane (1/1; 80 mL), filtered and washed with Et₂O (2×20 mL) to afford the pure desired product **252** (11.041 g, 33.3 mmol, **74 %**) as a white amorphous solid.

MP = 74-75 °C (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

TLC *R_f* = 0.90 (EtOAc/MeOH : 9/1).

IR (KBr): ν = 1026, 1242 (P=O), 1440, 1738, 2959, 3401 cm⁻¹.

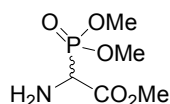
¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 3.71 (d, *J* = 12.0 Hz, 3H), 3.74 (d, *J* = 12.0 Hz, 3H), 3.76 (s, 3H), 4.88 (dd, *J* = 9.2 and 22.4 Hz, 1H), 5.07 (m, 2H), 5.58 (bs, 1H), 7.18-7.39 (m, 5H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 52.3 (d, *J* = 148 Hz, CH), 53.4 (CH₃), 54.2 (m, 2 CH₃), 67.5 (CH₂), 128.1 (2 CH), 128.3 (CH), 128.5 (2 CH), 135.8 (C), 155.7 (C), 167.1 (C).

ESI-MS : *m/z* = 354 [MNa]⁺.

HR-MS : *m/z* Calcd for [C₁₃H₁₈NO₇P+Na]⁺ 354.0623, Found 354.0625 (+0.4 ppm).

EA : Calcd for C₁₃H₁₈NO₇P : C, 47.14 ; H, 5.48; N, 4.23; Found: C, 47.16 ; H, 5.53; N, 4.30.

(α -PO(OMe)₂)-Gly-OMe 247

C₅H₁₂NO₅P
MW = 197.1 g.mol⁻¹

Product **247** was synthesised following the general procedure for deprotection of benzyl ester by hydrogenation (reaction time 3 h), using :

- 252** (993 mg, 3.0 mmol)
- palladium on carbon (Pd 10%, 64 mg, 0.02 eq)
- MeOH (15 mL)
- H₂ (50 psi, 3.4 atm)

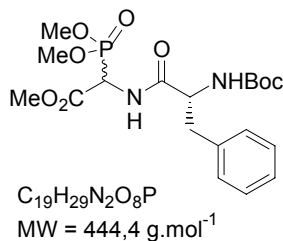
The crude product **247** was obtained as a white solid (590 mg, 3.0 mmol, **quant. yield**) and used without further purification.

IR (KBr): $\nu = 1026, 1242 (\text{P}=\text{O}), 1440, 1605, 1738, 2959, 3402 (\text{br}) \text{ cm}^{-1}$.

¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ (ppm) : 3.64 (d, $J = 12.0$ Hz, 3H), 3.65 (d, $J = 12.0$ Hz, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.98 (d, $J = 29.6$ Hz, 1H).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ (ppm) : 52.6 (d, $J = 144$ Hz, CH), 52.3 (CH₃), 53.4 (m, 2 CH₃), 170.5 (C).

N-Boc-D-Phe-(α -PO(OMe)₂)-Gly-OMe 236b



Dipeptide **236b** was obtained following the general procedure for peptide coupling with EDCi/HOBt, using:

- Crude amine **247** (276 mg, 1.4 mmol, 1.5 eq)
- N*-Boc-*D*-Phe **238** (247 mg, 0.93 mmol, 1.0 eq)
- HOBt (176 mg, 1.4 eq)
- EDCi (268 mg, 1.5 eq)
- CH₂Cl₂ (25 mL)

The crude (495 mg) was purified by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 7/3 to 8/2 to afford the pure desired product **236b** as a white hygroscopic foam (395 mg, 0.88 mmol, **95%**).

MP = 50-55 °C.

TLC $R_f = 0.30$ (EtOAc/cyclohexane : 8/2).

IR (CHCl₃): ν = 702, 1526, 1679, 1752, 2962, 3289 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.34 (s, 9H), 3.05 (m, 2H), 3.71-3.80 (m, 9H), 4.95 (dd, J = 8.0 and 19 Hz, 1H), 5.12 (ddd, J = 3.0, 9.0 and 12.0 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.12-7.26 (m, 6H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 28.1 (3 CH₃), 37.8 (CH₂), 50.0 (d, J = 150 Hz, CH), 53.3 (CH₃), 54.1 (d, J = 22.0 Hz, CH₃), 54.3 (CH), 55.5 (d, J = 22.0 Hz, CH₃), 80.3 (C), 127.0 (CH), 128.6 (2 CH), 129.3 (2 CH), 136.2 (C), 155.3 (C), 166.7 (C), 171.2 (C).

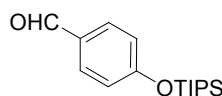
OR : $[\alpha]_D^{22} = +0.2$ (c = 1.50, CHCl₃).

ESI-MS : m/z = 467 [MNa]⁺, 345 [MH-Boc]⁺.

HR-MS : m/z Calcd for [C₁₉H₂₉N₂O₈P+Na]⁺ 467.1559, Found 467.1554 (−1.1 ppm).

EA : Calcd for C₁₉H₂₉N₂O₈P : C, 51.35 ; H, 6.58; N, 6.30; Found: C, 51.40 ; H, 6.57; N, 6.30.

p-Silyloxybenzaldehyde 237



C₁₆H₂₆O₂Si
MW = 178.5 g.mol⁻¹

p-Hydroxybenzaldehyde (976 mg, 8.0 mmol, 1.0 eq) was dissolved in CH₂Cl₂ (25 mL) at 0 °C and imidazole (1.2 g, 17.6 mmol, 2.2 eq) was added in one portion. This solution was stirred for 15 min then triisopropylchlorosilane (2 mL, 8.8 mmol, 1.1 eq) was added dropwise. The reaction temperature was allowed to rise to rt over 6 h. The mixture was washed with water (20 mL) and then citric acid (20 mL). The residual organic layer was dried over MgSO₄ and evaporated to afford the crude product (2.358 g), which was purified by flash chromatography using a gradient (EtOAc/cyclohexane from 2/8 to 3/7) to afford the pure desired product **237** as a colorless liquid (1.36 g, 7.6 mmol, **95%**). In some cases, further purification was carried out by distillation under reduced pressure with a bulb-to-bulb Kugelrohr apparatus to afford the pure product **237**.

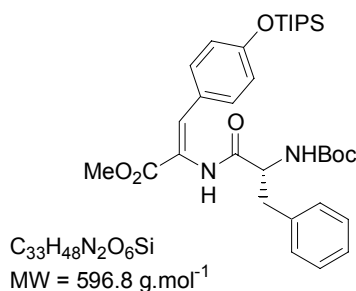
BP = 120-121 °C (1.5 mm Hg).

TLC R_f = 0.69 (EtOAc/cyclohexane : 2/8).

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.01 (d, J = 7.5 Hz, 18H), 1.20 (hept, J = 7.5 Hz, 3H), 6.91 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.81 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 9.81 (s, 1H).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 12.4 (3 CH), 17.8 (6 CH_3), 120.0 (2 CH), 126.9 (C), 131.9 (2 CH), 161.9 (C), 190.8 (CH).

N-Boc-D-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-OMe 231



a) Heck reaction

A suspension of palladium(II) acetate (12 mg, 0.053 mmol, 0.07 eq) and tri(*o*-tolyl)phosphine (32 mg, 0.11 mmol, 0.14 eq) in CH_3CN (6 mL) under argon was stirred briskly at rt for 10 min (the limpid yellow solution became cloudy). Then a solution of NEt_3 (210 μL , 1.5 mmol, 2 eq) and the *p*-iodophenyl silyl ether **232** (339 mg, 0.9 mmol, 1.2 eq) in CH_3CN (4 mL) was added to this suspension. The reaction mixture was stirred for a further 5 min (reddish solution), then dipeptide alkene **234** (261 mg, 0.75 mmol, 1 eq) was added and the mixture was refluxed for 96 h. After cooling, filtration of the resulting suspension through a celite pad and concentration furnished the crude product (360 mg). Purification by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 2/8 to 1/1 afford the desired product **231** (134 mg, 0.22 mmol, **30%**) as a white foam (only the *Z*-isomer).

b) Suzuki reaction

Argon was bubbling through a sonicating mixture of EtOH (1 mL), toluene (5 mL) and water (500 μL) for 30 minutes. The *N*-Boc-*D*-Phe-(β -bromo)- Δ Ala-OMe **235** (200 mg, 0.47 mmol, 1 eq), boronic acid **233** (276 mg, 0.94 mmol, 2 eq) and K_2CO_3 (70 mg, 0.52 mmol, 1.1 eq) were dissolved in this solution. $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (16 mg, 0.014 mmol, 0.03 eq) was added in one portion and the reaction mixture was stirred at 95 $^\circ\text{C}$ for 1 h. The mixture was cooled and filtered through celite and evaporated under reduce pressure to afford the crude (254 mg) which was purified by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 1/9

to 2/8 to afford the pure desired product **231** (only the *Z*-isomer) as a white powder (213 mg, 0.36 mmol, 76%).

c) Wadsworth-Emmons reaction

Phosphoryl dipeptide **236b** (10.040 g, 22.6 mmol, 1 eq) was dissolved in anhydrous CH₂Cl₂ (100 mL) in a cooling bath at –20 °C under argon and 1,8-diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-ene (3.8 mL, 25 mmol, 1.1 eq) was added dropwise to the stirred solution. The reaction mixture was stirred for a further 15 min then protected benzaldehyde **237** (4.64 g, 26 mmol, 1.15 eq) was added dropwise. The mixture was stirred and allowed to warm to rt over 5 h. The solution was washed with citric acid (5%; 2×30 mL), dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude (11.012 g). This crude was purified by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 1/9 to 3/7 to afford two stereoisomers in a ratio *Z/E* of 97/3, the major desired product (*Z*)-**231**, as a white powder (9.901 g, 16.6 mmol, 73%) and the (*E*)-**231**, as a white powder (294 mg, 0.5 mmol, 2%).

Major product (Z)-231

MP = 66-68 °C.

TLC *R_f* = 0.36 (EtOAc/cyclohexane : 3/7).

IR (KBr) : ν = 690, 914, 1172, 1268, 1600, 1680, 1721, 2869, 2948, 3292 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.00 (d, *J* = 7.2 Hz, 18H), 1.17 (hept, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.30 (s, 9H), 2.97 (dd, *J* = 7.2 and 13.2 Hz, 1H), 3.16 (dd, *J* = 7.2 and 13.2 Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 4.51 (bs, 1H), 5.13 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 6.71 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.10-7.21 (m, 5H), 7.23 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), **7.28 (s, 1H)**, 7.71 (bs, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 12.6 (3 CH), 17.9 (6 CH₃), 28.2 (3 CH₃), 37.6 (CH₂), 52.4 (CH₃), 55.8 (CH), 80.3 (C), 120.1 (2 CH), 121.7 (C), 126.2 (C), 126.8 (CH), 128.6 (2 CH), 129.5 (2 CH), 131.9 (2 CH), **134.0 (CH=)**, 136.7 (C), 155.7 (C), 157.5 (C), 165.6 (C), 170.8 (C).

OR : $[\alpha]_D^{21} = +23.5$ (*c* = 1.20, CHCl₃).

ESI-MS : *m/z* = 597 [MH]⁺, 497 [MH-Boc]⁺.

HR-MS : *m/z* Calcd for [C₃₃H₄₈N₂O₆Si+Na]⁺ 619.3179, Found 619.3188 (+1.4 ppm).

EA : Calcd for C₃₃H₄₈N₂O₆Si : C, 66.41 ; H, 8.11; N, 4.69; Found: C, 66.95 ; H, 8.15; N, 4.80.

Minor product (E)-231

MP = 51-53 °C.

TLC R_f = 0.45 (EtOAc/cyclohexane : 3/7).

IR (KBr) : ν = 686, 914, 1267, 1504, 1604, 1667, 2887, 2946, 3300, 3409 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 1.08 (d, J = 7.0 Hz, 18H), 1.23 (hept, J = 7.0 Hz, 3H), 1.38 (s, 9H), 3.06 (m, 1H), 3.14 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 4.52 (bs, 1H), 5.29 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.10 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.21-7.30 (m, 5H), **7.48 (s, 1H)**, 8.27 (bs, 1H).

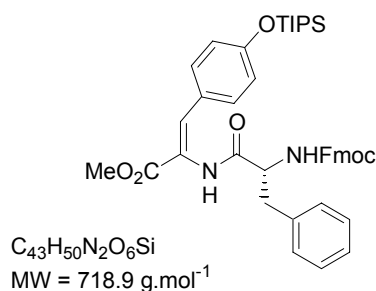
^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 12.6 (3 CH), 17.9 (6 CH_3), 28.2 (3 CH_3), 38.4 (CH_2), 52.5 (CH_3), 56.2 (CH), 80.4 (C), 119.5 (2 CH), 124.4 (C), 126.9 (CH), **127.0 (CH=)**, 127.4 (C), 128.7 (2 CH), 129.4 (2 CH), 130.3 (2 CH), 136.5 (C), 155.7 (C), 156.1 (C), 165.1 (C), 170.2 (C).

OR : $[\alpha]_D^{21} = +19.8$ (c = 1.20, CHCl_3).

ESI-MS : m/z = 597 $[\text{MH}]^+$, 497 $[\text{MH-Boc}]^+$.

HR-MS : m/z Calcd for $[\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}+\text{Na}]^+$ 619.3179, Found 619.3178 (−0.2 ppm).

EA : Calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$: C, 66.41 ; H, 8.11; N, 4.69; Found: C, 66.91 ; H, 8.19; N, 4.72.

N-Fmoc-D-Phe-ΔTyr(OTIPS)-OMe 260

Product **260** was synthesised following the general Boc to Fmoc procedure (reaction time overnight) using:

- 231** (500 mg, 0.84 mmol, 1 eq)
- CH_2Cl_2 -TFA (15 mL)
- Na_2CO_3 (10%; 4.5 mL)
- dioxane (7.0 mL)
- FmocCl (238 mg, 0.92 mmol, 1.1 eq)

Product **260** was obtained after purification by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane 20/80 as eluant, as a white foam (560 mg, 0.78 mmol, **93%**).

TLC R_f = 0.22 (EtOAc/ cyclohexane : 2/8), R_f = 0.74 (EtOAc/ cyclohexane : 1/1).

MP = 70-73 °C.

IR (KBr): ν = 765, 1230, 1535, 1660, 1700, 2400, 2910 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 1.11 (d, J = 7.2 Hz, 18H), 1.25 (hept, J = 7.2 Hz, 3H), 3.17 (m, 1H), 3.31 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 4.17 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.29 (m, 1H), 4.49 (m, 1H), 4.78 (bs, 1H), 5.71 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.22-7.38 (m, 9H), 7.41 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 7.51 (dd, J = 7.5 and 13.0 Hz, 2H), 7.76 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.90 (bs, 1H).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 14.1 (3 CH), 19.3 (6 CH_3), 39.2 (CH_2), 48.4 (CH), 53.9 (CH_3), 57.6 (CH), 68.6 (CH_2), 121.4 (2 CH), 123.0 (C), 126.5 (4 CH), 127.5 (C), 128.5 (CH), 129.1, 130.1, 130.9, 133.3 (10 CH), 135.6 (CH), 137.9 (C), 142.6, 145.1 (4 C), 157.7 (C), 159.0 (C), 167.0 (C), 171.9 (C).

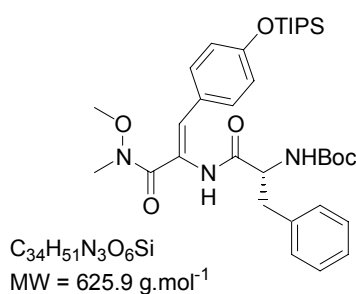
OR : $[\alpha]_D^{22} = +21.2$ (c = 1.00, CHCl_3).

ESI-MS : m/z = 741 $[\text{MNa}]^+$.

HR-MS : m/z Calcd for $[\text{C}_{43}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}+\text{H}]^+$ 719.3516, Found 719.3497 (−2.7 ppm).

EA : Calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$: C, 71.84 ; H, 7.01; N, 3.90; Found: C, 72.39 ; H, 7.02; N, 3.92.

N*-Boc-*D*-Phe- Δ Tyr(OTIPS)-*N*(OMe)Me **255*



N,O-Dimethylhydroxylamine hydrochloride (1.435 g, 14.7 mmol, 20 eq) was stirred in anhydrous THF (5 mL) under argon at −10 °C, while *s*-butylmagnesium chloride (14.7 mL, 29.2 mmol, 40 eq) was added dropwise over 20 min; during this time the solution became successively transparent then cloudy. The solution was cooled to −20 °C and a solution of ester **231** (440 mg, 0.73 mmol, 1.0 eq) in THF (10 mL) was added slowly *via* a canula. The reaction mixture was stirred for a further 1.5 h then quenched with a saturated ammonium chloride solution (10 mL). This resulting mixture was evaporated under reduced pressure and

digested with CH_2Cl_2 (20 mL). The organic phase was washed with water (10 mL), dried over MgSO_4 and evaporated to afford the crude (539 mg). This crude was purified by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane 4/6 as eluant to afford the pure desired product **255** as a white powder (427 mg, 0.68 mmol, **93%**).

MP = 68-70 °C.

TLC R_f = 0.55 (EtOAc/ cyclohexane : 1/1).

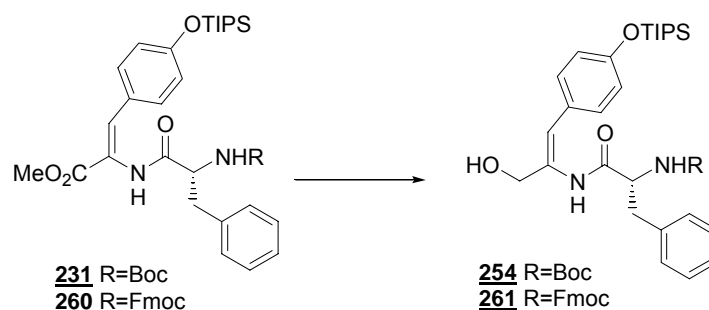
IR (KBr) : ν = 760, 910, 1170, 1215, 1270, 1510, 1600, 1780, 2940, 3400 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 1.02 (d, J = 7.5 Hz, 18H), 1.19 (hept, J = 7.5 Hz, 3H), 1.30 (s, 9H), 2.98 (m, 1H), 3.11 (m, 1H), 3.21 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 4.41 (bs, 1H), 5.10 (bs, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.71 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.99 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.10-7.22 (m, 5H), 7.88 (bs, 1H).

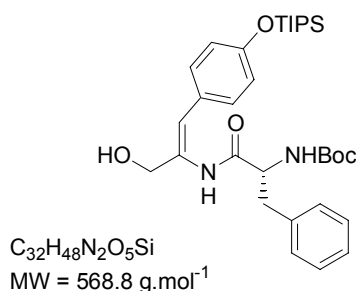
^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 12.6 (3 CH), 17.9 (6 CH_3), 28.2 (3 CH_3), 37.6 (CH_3), 38.0 (CH_2), 55.8 (CH), 60.7 (CH_3), 80.2 (C), 120.3 (2 CH), 121.4 (CH), 126.2 (2 C), 126.9 (CH), 128.6, 129.4, 130.2 (6 CH), 136.6 (C), 155.5 (C), 156.2 (C), 167.3 (C), 169.8 (C).

OR : $[\alpha]_D^{25} = +40.2$ (c = 1.70, CHCl_3).

General procedure for reduction of esters to corresponding alcohols



Lithium aluminium hydride (7.7 mmol, 2.3 eq) was suspended in THF (100 mL) at 0 °C under argon. A solution of ester (3.35 mmol) in THF (20 mL) was added dropwise over 5 min then the reaction mixture was stirred for a specified time and, when stated allowed to warm to rt. After this time, the reaction was cautiously quenched successively with water (12 mL) and HCl solution (1 M; 12 mL) at 0 °C. After stirring for 10 min, MgSO_4 was added in excess and the mixture was stirred for a further 30 min. After filtration, solids were washed with EtOAc (3×20 mL) and the combined filtrates were evaporated under reduced pressure to furnish the crude product, which was purified by flash chromatography to afford the desired pure product.

N-Boc-D-Phe-ΔTyr(OTIPS)-CH₂OH 254

Product **254** was synthesised following the general procedure with a reaction time of 2.5 h at rt, using:

- 231** (2.000 g, 3.35 mmol, 1 eq)
- LiAlH₄ (292 mg, 7.70 mmol, 2.3 eq)
- THF (100 mL + 20 mL)

Product **254** was obtained after purification by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane : 2/8 as a white foam (1.641 g, 2.88 mmol, **86%**).

MP = 36-38 °C.

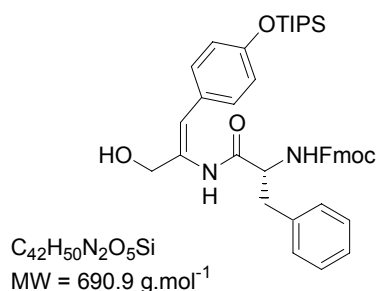
TLC R_f = 0.16 (EtOAc/cyclohexane : 2/8).

IR (CHCl₃) : ν = 760, 1260, 1500, 1510, 1680, 1720, 2820, 2850, 3420 (br) cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.01 (d, J = 7.5 Hz, 18H), 1.18 (hept, J = 8.0 Hz, 3H), 1.29 (s, 9H), 3.02 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 4.21 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 4.31 (bs, 1H), 4.49 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 4.88 (bs, 1H), 5.76 (s, 1H), 6.68 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.75 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.09-7.20 (m, 5H), 7.79 (bs, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 12.6 (3 CH), 17.9 (6 CH₃), 28.2 (3 CH₃), 38.3 (CH₂), 56.6 (C), 64.2 (CH₂), 80.6 (C), 116.8 (CH), 119.2 (2 CH), 126.8 (C), 127.2 (CH), 128.9, 129.3, 129.4 (6 CH), 133.9 (C), 136.1 (C), 155.2 (C), 155.4 (C), 170.3 (C).

OR : $[\alpha]_D^{25} = +20.5$ (c = 1.40, CHCl₃).

N-Fmoc-D-Phe-ΔTyr(OTIPS)-CH₂OH 261

Product **261** was synthesised following the general procedure, with a reaction time of 1 h at 0 °C, using :

- 260** (498 mg, 0.69 mmol)
- LiAlH₄ (60 mg, 1.59 mmol, 2.3 eq)
- THF (20 mL + 5 mL)

Product **261** was obtained after purification by flash chromatography using a gradient (EtOAc/cyclohexane : from 2/8 to 1/1) as a white foam (379 mg, 0.55 mmol, **79%**).

MP = 48-51 °C.

TLC R_f = 0.60 (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

IR (KBr) : ν = 740, 913, 1267, 1504, 1604, 1667, 2887, 2945, 3300, 3410 (br) cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 0.95 (d, J = 7.2 Hz, 18H), 1.13 (hept, J = 7.2 Hz, 3H), 3.00 (m, 2H), 4.05 (m, 2H), 4.18 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 4.35 (dd, J = 8.0 and 10.0 Hz, 1H), 4.43 (m, 1H), 5.38 (bs, 1H), 5.77 (s, 1H), 6.65 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.72 (m, 2H), 7.10 (m, 2H), 7.14-7.23 (m, 7H), 7.30 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 7.39 (dd, J = 7.5 and 13.0 Hz, 2H), 7.65 (d, J = 7.5 Hz, 2H).

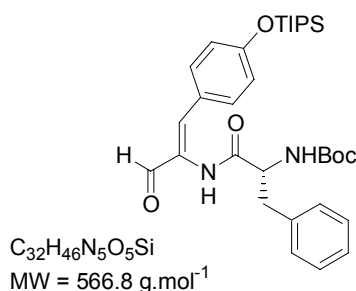
¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 12.6 (3 CH), 17.9 (6 CH₃), 38.5 (CH₂), 47.1 (CH), 57.1 (CH), 64.3 (CH₂), 67.2 (CH₂), 117.4 (CH), 120.0, 120.4 (6 CH), 124.9 (CH), 126.7 (C), 127.4, 128.9, 129.3, 129.5, 130.1 (10 CH), 133.8, 135.8 (2 C), 141.3, 143.6 (4 C), 155.5 (C), 155.8 (C), 169.9 (C).

OR : $[\alpha]_D^{22} = +32.6$ (c = 1.40, CHCl₃).

ESI-MS : m/z = 713 [MNa]⁺, 673 [MH-H₂O]⁺.

HR-MS : m/z Calcd for [C₄₂H₅₀N₂O₅Si+H]⁺ 691.3567, Found 691.3570 (+1.3 ppm).

EA : Calcd for C₄₂H₅₀N₂O₅Si : C, 73.01 ; H, 7.29; N, 4.05; Found: C, 73.01 ; H, 7.34; N, 4.11.

N-Boc-D-Phe-ΔTyr(OTIPS)-CHO 253**a) Reduction of Weinreb amide 255**

Lithium aluminium hydride (7 mg, 0.18 mmol, 1.6 eq) was suspended in ether (4 mL) at 0 °C under argon, then a solution of Weinreb amide **255** (70 mg, 0.11 mmol, 1 eq) in ether (3 mL) was added dropwise over 5 min. The reaction mixture was stirred for 3 h at 0 °C, then was cautiously quenched with a KHSO₄ solution (3%; 5 mL). After stirring for 10 min, MgSO₄ was added in excess and this mixture was stirred for a further 30 min. The mixture was filtered and the solids were washed with EtOAc (3×5 mL). Evaporation of combined filtrates furnished the crude product (52 mg), which was purified by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane 20/80 as eluant to afford the desired pure product **253** as a white-yellow solid (31 mg, 0.055 mmol, **49%**).

b) Oxidation of alcohol 254

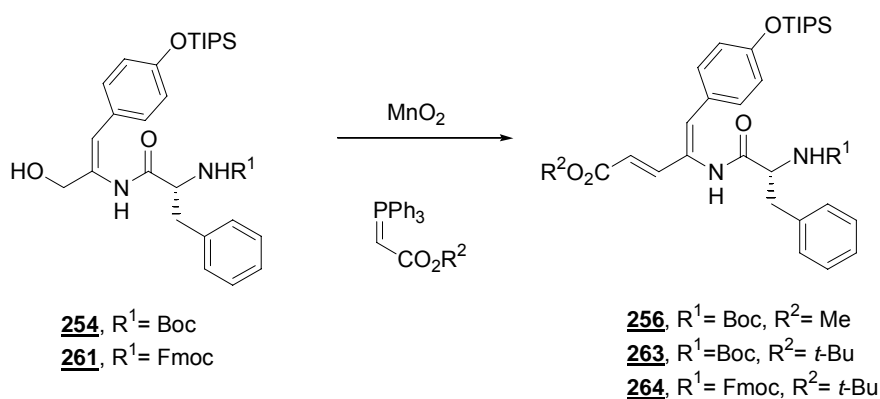
Alcohol **254** (325 mg, 0.57 mmol, 1 eq) was dissolved under argon in CH₂Cl₂ (7 mL) and pyridine (122 μL, 1.50 mmol, 2.6 eq) was added with a solution of (1,1,1-triacétoxy)-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-one (DMP) (15% weight solution in CH₂Cl₂; 2.2 g, 0.78 mmol, 1.4 eq). This reaction mixture was stirred for 0.5 h at rt then quenched with a saturated solution of Na₂CO₃ (20 mL) and Na₂S₂O₃ (1.9 g). After stirring for 5 min, ether (20 mL) was added and a white suspension appeared. This precipitate was filtered on celite and washed with ether (20 mL). Combined organic filtrate was then washed with water (30 mL), dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude (360 mg). This crude was purified by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane from 2/8 to 3/7 to yield the desired product **25** (133 mg, 0.23 mmol, **41%**), as a yellow powder.

TLC R_f = 0.85 (EtOAc/ cyclohexane : 1/1).

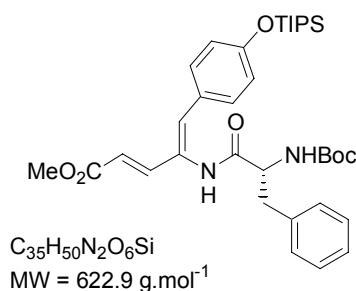
^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 1.03 (d, J = 7.5 Hz, 18H), 1.18 (hept, J = 7.5 Hz, 3H), 1.34 (s, 9H), 2.99 (dd, J = 8.0 and 12.8 Hz, 1H), 3.15 (dd, J = 4.8 and 12.8 Hz, 1H), 4.51 (bs, 1H), 5.02 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.76 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.92 (s, 1H), 7.16-7.29 (m, 7H), 7.72 (bs, 1H), 9.26 (s, 1H).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 12.6 (3 CH), 17.9 (6 CH_3), 28.2 (3 CH_3), 37.6 (CH_2), 55.8 (CH), 80.3 (C), 120.1 (2 CH), 121.6 (C), 126.1 (C), 126.8 (CH), 128.6, 129.4, 130.3 (6 CH), 134.3 (CH), 136.6 (C), 155.8 (C), 157.8 (C), 165.6 (C), 191.0 (C).

General procedure for oxidation/vinylogation of alcohol with activated MnO_2



Alcohol (0.35 mmol, 1 eq) was dissolved in CH_2Cl_2 (10 mL) under argon. Activated manganese(IV) oxide (305 mg, 3.5 mmol, 10 eq) and a stabilised phosphorane (0.52 mmol, 1.5 eq) were added in succession. The reaction mixture was heated at 40-55 $^\circ\text{C}$. After 24 h, a further portion of activated manganese(IV) oxide (305 mg, 3.5 mmol, 10 eq) was added and the mixture was stirred at reflux for a further 12 h. Solids were removed by filtration through Celite and washed with CH_2Cl_2 (3 \times 40 mL). The combined organic filtrates were evaporated under reduced pressure to furnish the crude as a brown oil, which was purified by flash chromatography to afford the desired vinylogated product.

N-Boc-D-Phe-V-ΔTyr(OTIPS)-OMe 256**a) Vinylogation of aldehyde 253 using phosphonate 257**

NaH (5 mg, 0.18 mmol, 2.2 eq) was suspended in THF (3 mL) under argon at 0 °C, then methyl diethylphosphonoacetate 257 (37 μL, 0.20 mmol, 2.4 eq) was added dropwise. After 1 h reaction, a solution of aldehyde 253 (47 mg, 0.08 mmol, 1 eq) in THF (1 mL) was added *via* canula and the reaction mixture was stirred and allowed to warm to rt over 1 h. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure, taken up with water (10 mL) and extracted with EtOAc (3×40 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude (52 mg). Product 256 was obtained after purification by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane 2/8, as a pale yellow foam (39 mg, 0.06 mmol, **75%**).

b) Vinylogation of aldehyde 253 using a phosphorane 258

Aldehyde 253 (68 mg, 0.12 mmol, 1 eq) was dissolved under argon in toluene (4 mL) and carbomethoxymethylene triphenylphosphorane 258 (603 mg, 1.79 mmol, 15 eq) was added in one portion. The reaction mixture was stirred at 80 °C for 3 h. Solids were removed by filtration through Celite and washed with CH₂Cl₂ (3×40 mL). The combined organic filtrates were evaporated under reduced pressure to furnish the crude as a brown oil (127 mg), which was purified by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane 2/8 to afford the pure product 256 as a pale yellow foam (41 mg, 0.066 mmol, **55%**).

c) Oxidation/vinylogation of alcohol **254**

Product **256** was synthesised following the general procedure for oxidation/vinylogation, heating at 50 °C, using :

- 254** (200 mg, 0.35 mmol)
- MnO₂ (305 mg, 3.5 mmol, 10 eq) ×2
- carbomethoxymethylene triphenylphosphorane **258** (177 mg, 0.52 mmol, 1.5 eq)
- CH₂Cl₂ (10 mL)

Product **256** was obtained after purification by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane 1/9, as a pale yellow foam (162 mg, 0.26 mmol, **74%**).

MP = 71-73 °C.

TLC R_f = 0.42 (EtOAc/cyclohexane : 3/7).

IR (CHCl₃) : ν = 760, 1235, 1506, 1532, 1590, 1675, 1700, 2880, 2950, 3300 cm⁻¹.

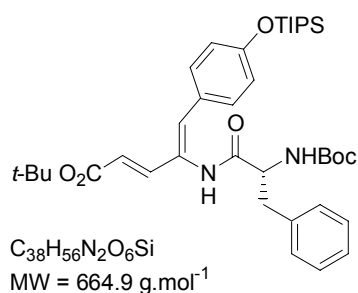
¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.02 (d, J = 7.2 Hz, 18H, 6 CH₃), 1.16 (hept, J = 7.2, Hz, 3H, 3 Si-CH), 1.34 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 3.00 (dd, J = 7.1 and 13.8 Hz, 1H, CH₂-Ph), 3.13 (dd, J = 7.1 and 13.8 Hz, 1H, CH₂-Ph), 3.64 (s, 3H, O-CH₃), 4.51 (q, J = 7.1 Hz, 1H, CH_α), 5.08 (d, J = 8.4 Hz, 1H, NH), 5.59 (d, J = 15.4 Hz, 1H, CH=CH), 6.53 (s, 1H, CH=C), 6.67 (d, J = 8.6 Hz, 2H, CH_{ar}), 7.13 (d, J = 8.6 Hz, 2H, CH_{ar}), 7.15-7.26 (m, 6H, CH_{ar}), 7.47 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 12.6 (3 Si-CH), 17.9 (6 CH₃), 28.3 (3 CH₃), 37.5 (CH₂-Ph), 51.4 (OCH₃), 56.0 (CH_α), 80.6 (O-C-(CH₃)₃), 116.8 (CH=C), 120.1 (2 CH_{ar}), 127.0 (CH_{ar}), 127.1 (C_{ipso}), 128.6 (C_{ipso}), 128.8, 129.4, 131.2 (6 CH_{ar}), 135.0 (CH=C), 136.5 (C_{ipso}), 144.0 (CH=C), 155.9 (CH=C), 157.0 (NHCOO), 167.3 (NHCO), 170.4 (CO₂Me).

OR : $[\alpha]_D^{25} = +68.0$ (c = 1.60, CHCl₃).

HR-MS : m/z Calcd for [C₃₅H₅₀N₂O₆Si+Na]⁺ 645.3336, Found 645.3343 (+1.2 ppm).

EA : Calcd for C₃₅H₅₀N₂O₆Si : C, 67.49; H, 8.09; N, 4.50; Found: C, 67.52; H, 8.09; N, 4.59.

N-Boc-D-Phe-V-ΔTyr(OTIPS)-Ot-Bu 263

Product **263** was synthesised following the general procedure for oxidation/vinylogation, heating at 55 °C, using:

- 254** (408 mg, 0.72 mmol)
- MnO₂ (623 mg, 7.2 mmol, 10 eq) ×2
- t*-butoxycarbonylmethylene triphenylphosphorane **262** (405 mg, 1.07 mmol, 1.5 eq)
- CH₂Cl₂ (20 mL)

Product **263** was obtained after purification by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 1/9 to 2/8, as a pale yellow foam (762 mg, 1.15 mmol, **65%**).

MP = 86-87 °C.

TLC *R_f* = 0.63 (EtOAc/cyclohexane : 25/75).

IR (KBr) : ν = 760, 1235, 1507, 1532, 1704, 1700, 2880, 3320 cm⁻¹.

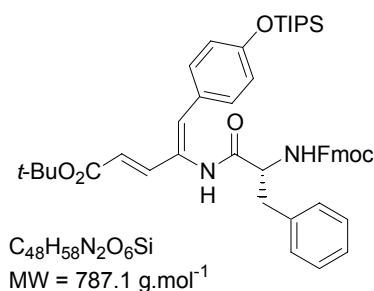
¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.04 (d, *J* = 7.2 Hz, 18H, 6 CH₃), 1.16 (hept, *J* = 7.2 Hz, 3H, 3 Si-CH), 1.39 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 1.46 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 3.05 (m, 1H, CH₂-Ph), 3.19 (m, 1H, CH₂-Ph), 4.67 (bs, 1H, CH_a), 5.45 (bs, 1H, NH), 5.61 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H, CH=CH), 6.54 (s, 1H, CH=C), 6.72 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, CH_{ar}), 7.16-7.30 (m, 8H, CH_{ar}), 7.90 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 12.6 (3 Si-CH), 17.9 (6 CH₃), 28.2 (3 CH₃), 28.3 (3 CH₃), 37.4 (CH₂-Ph), 56.1 (CH_a), 80.2, 80.7 (2 O-C-(CH₃)₃), 119.1 (CH=C), 119.9 (2 CH_{ar}), 127.0 (CH_{ar}), 127.2, 128.1 (2 C_{ipso}), 128.5, 129.4, 131.0 (6 CH_{ar}), 134.3 (CH=C), 136.5 (C_{ipso}), 142.8 (CH=C), 155.8 (CH=C), 156.8 (NHCOO), 166.2 (NHCO), 170.1 (CO₂ *t*-Bu).

ESI-MS : *m/z* = 687 [MNa]⁺.

OR : $[\alpha]_D^{25} = +30.6$ (*c* = 1.60, CHCl₃).

N-Fmoc-D-Phe-V-ΔTyr(OTIPS)-Ot-Bu 264



Product **264** was synthesised following the general procedure for oxidation/vinylogation, heating at 40 °C, using:

-**261** (4.387 mg, 6.35 mmol)

-MnO₂ (5.520 g, 63.5 mmol, 10 eq) ×2

-*t*-butoxycarbonylmethylene triphenylphosphorane **262** (3.580 g, 9.52 mmol, 1.5 eq)

-CH₂Cl₂ (200 mL)

Product **264** was obtained after purification by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 1/9 to 2/8, as a yellow foam (2.920 g, 3.71 mmol, **58%**).

MP = 86-89 °C.

TLC *R_f* = 0.28 (EtOAc/cyclohexane : 2/8).

IR (KBr) : ν = 740, 913, 1150, 1273, 1507, 1596, 1704, 2867, 2945, 3427 cm⁻¹.

¹H NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 1.10 (d, *J* = 6.8 Hz, 18H, 6 CH₃), 1.22 (hept, *J* = 6.8 Hz, 3H, 3 Si-CH), 1.51 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 3.14 (m, 1H, CH₂-Ph), 3.39 (m, 1H, CH₂-Ph), 4.22 (m, 2H, CH₂ Fmoc), 4.41 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, CH Fmoc), 4.91 (bs, 1H, CH_a), 5.93 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H, CH=CH), 6.81 (s, 1H, CH=C), 6.88 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH_{ar}), 7.19-7.44 (m, 11H, CH_{ar}), 7.57-7.66 (m, 4H, CH_{ar}), 7.84 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH_{ar}), 8.87 (bs, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 12.7 (3 Si-CH), 17.9 (6 Si-CH-(CH₃)₂), 28.1 (3 O-C-(CH₃)₃), 37.7 (CH₂-Ph), 47.1 (CH), 56.4 (CH_a), 67.0 (CH₂), 80.4 (O-C-(CH₃)₃), 119.2 (CH=C), 119.9 (2 CH_{ar}), 120.1 (2 CH_{ar}), 125.0 (CH_{ar}), 128.4 (4 CH_{ar}), 128.5 (C_{ipso}), 128.7 (4 CH_{ar}), 128.9 (C_{ipso}), 129.2, 129.4, 130.9 (6 CH_{ar}), 134.2 (CH=C), 136.2 (C_{ipso}), 141.3 (2 C_{ipso}, Fmoc), 142.6 (CH=C), 143.6 (2 C_{ipso}, Fmoc), 156.3 (CH=C), 156.9 (NHCOO), 166.2 (NHCO), 169.9 (CO₂ *t*-Bu).

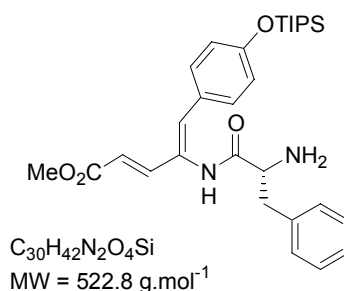
OR : $[\alpha]_D^{22} = +20.2$ (*c* = 1.20, CHCl₃).

ESI-MS : *m/z* = 809 [MNa]⁺.

HR-MS : *m/z* Calcd for [C₄₈H₅₈N₂O₆Si+Na]⁺ 809.3962, Found 809.3978 (+2.0 ppm).

LC-MS : *m/z* = 809 [MNa]⁺, Pure product was analysed on reversed-phase HPLC using a C₁₈ column and a mobile phase gradient of CH₃CN/H₂O from 1/9 to 9/1, *t_R* = 27.6 min.

EA : Calcd for C₄₈H₅₈N₂O₆Si : C, 73.25 ; H, 7.43; N, 3.56; Found: C, 73.55 ; H, 7.34; N, 3.54.

D-Phe-V-ΔTyr(OTIPS)-OMe 155

Product **155** was synthesised following the general procedure for Boc group removal, using :

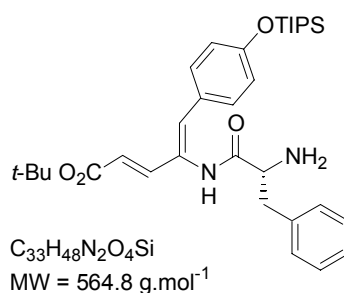
-**256** (495 mg, 0.79 mmol)

-CH₂Cl₂-TFA (8 mL)

The crude salt was taken up in CH₂Cl₂ (10 mL) and washed with a Na₂CO₃ solution (10%; 5 mL) to afford the free desired amine (408 mg, 0.78 mmol, **98%**) which was used without further purification.

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.12 (d, *J* = 7.3 Hz, 18H, 6 CH₃), 1.25 (hept, *J* = 7.3, Hz, 3H, 3 CH-Si), 1.78 (bs, 2H, NH₂), 2.93 (dd, *J* = 8.8 and 13.6 Hz, 1H, CH₂-Ph), 3.31 (dd, *J* = 4.0 and 13.6 Hz, 1H, CH₂-Ph), 3.76 (s, 3H, O-CH₃), 3.81 (dd, *J* = 4.0 and 8.8 Hz, 1H, CH_α), 5.83 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H, CH=CH), 6.66 (s, 1H, CH=C), 6.81 (s, *J* = 8.6 Hz, 2H, CH_{ar}), 7.28-7.38 (m, 7H, CH_{ar}), 7.42 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H, CH=CH), 8.95 (bs, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 11.5 (3 Si-CH), 16.7 (6 CH₃), 39.2 (CH₂-Ph), 50.4 (CH_α), 55.4 (O-CH₃), 115.9 (CH=C), 119.0 (2 CH_{ar}), 125.9 (CH_{ar}), 126.3 (2 C_{ipso}), 127.2, 127.8, 128.7 (6 CH_{ar}), 132.5 (CH=C), 136.3 (C_{ipso}), 143.0 (CH=C), 155.8 (CH=C), 166.2 (NHCO), 171.6 (CO₂Me).

D-Phe-V-ΔTyr(OTIPS)-Ot-Bu 267

Product **267** was synthesised following the general procedure for Fmoc group removal, using:

-**263** (50 mg, 0.063 mmol)

-NHEt₂ (1.5 mL, 231 eq)

-CH₃CN (3 mL)

The crude amine (50 mg, 0.06 mmol, **quant.**) was generally used without further purification for the next step, but was purified on one occasion by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 2/8 to 3/7 to afford the pure free amine **267** (32 mg, 0.057 mmol, **90%**) as a yellow solid.

TLC R_f = 0.50 (EtOAc/cyclohexane : 4/6).

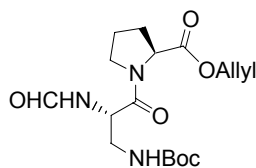
¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.01 (d, J = 7.2 Hz, 18H, 6 CH₃), 1.17 (hept, J = 7.2, Hz, 3H, 3 CH-Si), 1.43 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 2.12 (bs, 2H, NH₂), 2.87 (dd, J = 8.8 and 13.6 Hz, 1H, CH₂-Ph), 3.23 (dd, J = 4.0 and 13.6 Hz, 1H, CH₂-Ph), 3.92 (m, 1H, CH_α), 5.65 (d, J = 15.4 Hz, 1H, CH=CH), 6.57 (s, 1H, CH=C), 6.71 (s, J = 7.6 Hz, 2H, CH_{ar}), 7.17-7.32 (m, 8H, CH_{ar}), 8.78 (bs, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 12.6 (3 Si-CH), 17.9 (6 CH₃), 28.2 (3 CH₃), 37.4 (CH₂-Ph), 50.6 (CH_α), 80.3 (O-C-(CH₃)₃), 119.1 (CH=C), 120.1 (2 CH_{ar}), 127.1 (CH_{ar}), 127.2, 128.7 (2 C_{ipso}), 128.8, 129.3, 130.4 (6 CH_{ar}), 134.4 (CH=C), 136.5 (C_{ipso}), 142.8 (CH=C), 156.8 (CH=C), 166.2 (NHC=O), 170.2 (CO₂ t-Bu).

ESI-MS : m/z = 565 [MH]⁺, 509 [MH-C₄H₈]⁺.

ESI(-)-MS : m/z = 563 [M-H]⁻.

N^α-CHO-N^β-Boc-Dpr-Pro-OAllyl 269a



C₁₇H₂₇N₃O₆
MW = 369.4 g.mol⁻¹

Product **269a** was obtained according to the general procedure for peptide coupling reaction using EDCi/DMAP (reaction time of 12 h), using:

-dipeptide **160** (150 mg, 0.45 mmol, 1eq)

-allyl alcohol (104 mg, 122 μ L, 1.8 mmol, 4.0 eq)

-DMAP (11 mg, 0.09 mmol, 0.2 eq)

-EDCi (104 mg, 0.54 mmol, 1.2 eq)

-CH₂Cl₂ (5 mL)

The solvent was evaporated under reduced pressure to afford the crude residue which was directly purified by flash chromatography using EtOAc/MeOH 97/3 to afford the desired pure product **269a** (156 mg, 0.42 mmol, **94%**) as a white solid.

MP = 112-115 °C.

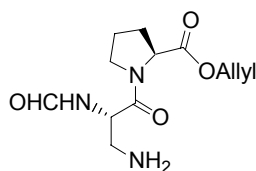
TLC R_f = 0.59 (EtOAc/cyclohexane : 9/1) or 0.48 (EtOAc/cyclohexane : 95/5).

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 1.35 (s, 9H, O-C-(CH_3)₃), 1.91-2.00 (m, 3H, CH_2 Pro), 2.19-2.21 (m, 1H, CH_2 Pro), 3.23 (dd, J = 7.0 and 14.0 Hz, 1H, CH_2N Dpr), 3.45 (m, 1H, CH_2N Dpr), 3.72 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH_2N Pro), 4.46 (dd, J = 3.8 and 9.0 Hz, 1H, CH_α Pro), 4.55 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH_2 -Allyl), 4.95 (q, J = 6.5 Hz, 1H, CH_α Dpr), 5.18 (dd, J = 1.3 and 10.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 5.27 (dd, J = 1.3 and 17.2 Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 5.35 (t, J = 6.3 Hz, 1H, NH), 5.85 (m, 1H, CH=), 7.27 (d, J = 8.4 Hz, 1H, NH), 8.10 (s, 1H, NCHO).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 24.8 (CH_2 , Pro), 28.2 (3 CH_3 , Boc), 28.8 (CH_2 , Pro), 42.1 (CH_2N , Dpr), 47.1 (CH_2N , Pro), 49.4 (CH_α , Dpr), 59.0 (CH_α , Pro), 65.7 (CH_2 , Allyl), 79.3 (O-C-(CH_3)₃), 118.7 ($\text{CH}_2=$), 131.5 ($\text{CH}=$), 156.0 (NHCOO), 161.4 (NHCHO), 169.0 (NHCO, Dpr), 171.3 (CO₂Allyl).

OR : $[\alpha]_D^{22} = -56.2$ (c = 1.01, CHCl_3).

N^a -CHO-Dpr-Pro-OAllyl 269



$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$
MW = 269.3 g.mol⁻¹

Product **269** was synthesised following the general procedure for Boc group removal using :

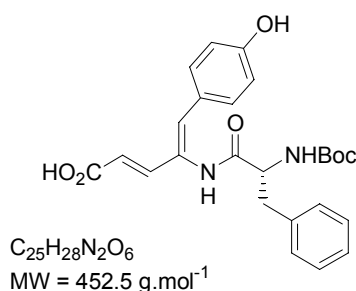
-**269a** (40 mg, 0.11 mmol)

- CH_2Cl_2 -TFA (3 mL)

The TFA salt (40 mg, 0.10 mmol, **quant.**) was obtained as a white solid. The free amine **269** was generated by treating a solution of this salt in THF (500 μL) with diisopropylethylamine (18 μL , 0.10 mmol, 1 eq) for 10 min at 0 °C. This solution was used immediately in the next step.

TLC R_f = 0.10 (EtOAc/MeOH : 9/1).

ESI-MS : m/z = 292 $[\text{MNa}]^+$, 270 $[\text{MH}]^+$, 252 $[\text{MH}-\text{H}_2\text{O}]^+$.

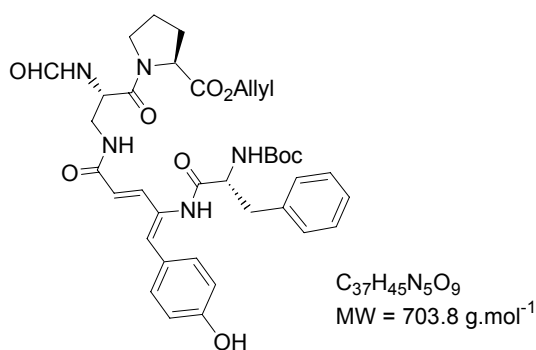
N-Boc-D-Phe-V-ΔTyr-OH 271

N-Boc-*D*-Phe-V-ΔTyr(OTIPS)-OMe **256** (156 mg, 0.25 mmol, 1 eq) was dissolved in EtOH (95%; 6 mL) and the solution cooled to 0 °C over 10 min. A sodium hydroxide solution (1 M; 3.8 mL, 3.8 mmol, 15 eq) was added slowly to the reaction mixture, which was stirred for a further 6 h at 0 °C. The yellow solution was concentrated under reduced pressure to remove the ethanol, taken to pH 1 with a HCl solution (1 M; 3 mL) and extracted with EtOAc (3×20 mL). Combined organic extracts were evaporated under reduced pressure to afford the desired product **271** as yellow solid (113 mg, 0.25 mmol, **100%**). This product was used without further purification.

TLC R_f = 0.00 (EtOAc/MeOH : 9/1).

¹H NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 1.24 (s, 9H), 2.90 (dd, J = 7.1 and 13.0 Hz, 1H), 3.19 (dd, J = 7.1 and 13.0 Hz, 1H), 4.49 (m, 1H), 5.75 (d, J = 15 Hz, 1H), 6.25 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.69 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.70 (s, 1H), 7.10-7.25 (m, 5H), 7.25 (s, 1H), 7.37 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 8.45 (bs, 1H), 8.57 (bs, 1H), 10.0-11.0 (bs, 1H).

¹³C NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 28.7 (3 CH₃), 38.3 (CH₂), 57.9 (CH), 79.8 (C), 116.4 (CH), 117.6 (2 CH), 127.3 (C), 127.4 (CH), 129.0 (2 CH), 129.3 (C), 129.6 (2 CH), 132.1 (2 CH), 136.4 (CH), 138.5 (C), 146.3 (CH), 156.8 (C), 159.2 (C), 168.8 (C), 172.2 (C).

N-Boc-D-Phe-V-ΔTyr-N^α-CHO-Dpr-Pro-OAllyl 275

A solution of *N*-Boc-*D*-Phe-V- Δ Tyr-OH **271** (280 mg, 0.62 mmol, 1 eq) in THF (3 mL) was cooled to $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ under argon and diisopropylethylamine (119 μL , 0.68 mmol, 1.1 eq) was added slowly. The reaction mixture was stirred briskly for a further 20 min then a solution of diphenylphosphoryl chloride (154 mg, 0.65 mmol, 1.05 eq) in THF (1 mL), and a solution of dipeptide **269** (217 mg, 0.81 mmol, 1.3 eq) in THF (2 mL) were added dropwise successively. The reaction mixture was stirred for a further 1 h at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ and then was allowed to warm to rt over 24 h. The solvent was evaporated under reduced pressure and the residue was taken up with EtOAc (40 mL). This solution was washed with a saturated NaHCO_3 solution ($5\times 15\text{ mL}$) until the aqueous phase was transparent. The organic phase was dried over MgSO_4 and evaporated to furnish the crude (335 mg), which was purified by flash chromatography using a gradient of $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ from 98/2 to 95/5 to afford the pure desired product **275** as a yellow foam (353 mg, 0.50 mmol, **80%**).

MP = $110\text{--}112\text{ }^{\circ}\text{C}$.

TLC R_f = 0.50 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 9/1).

IR (KBr) : ν = 760, 1235, 1506, 1532, 1590, 1675, 1700, 2880, 2950, 3300 cm^{-1} .

^1H NMR (acetone- d_6) δ (ppm) : 1.36 (d, J = 7.0 Hz, 9H, O-C-(CH_3)₃), 1.90-1.96 (m, 3H, CH_2 Pro), 2.25 (m, 1H, CH_2 Pro), 3.00 (t, J = 13.2 Hz, 1H, CH_2 Phe), 3.27 (m, 2H, CH_2 -Phe+OH), 3.33 (dd, J = 4.0 and 13.8 Hz, 1H, CH_2N Dpr), 3.48 (m, 1H, CH_2N Dpr), 3.77 (m, 1H, CH_2N Pro), 3.90 (m, 1H, CH_2N Pro), 4.53 (bs, 1H, CH_α Pro), 4.59 (m, 2H, CH_2 -Allyl), 4.72 (m, 1H, CH_α Phe), 5.00-5.09 (m, 1H, CH_α Dpr), 5.20 (t, J = 9.0 Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}$), 5.32 (d, J = 15.4 Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}$), 5.91 (m, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}$), 6.02 (d, J = 15.3 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$ V- Δ Tyr), 6.44 (d, J = 8.6 Hz, 1H, NH), 6.74 (s, 1H, $\text{CH}=\text{C}$ V- Δ Tyr), 6.83 (d, J = 8.6 Hz, 2H, CH_{ar}), 7.25-7.52 (m, 8H, CH_{ar}), 7.98 (d, J = 8.6 Hz, 1H, NH), 8.17 (s, 1H, NCHO), 8.89 (bs, 1H, NH), 8.97 (d, J = 8.7 Hz, 1H, NH).

^{13}C NMR (acetone- d_6) δ (ppm) : 25.6 (CH_2 , Pro), 28.7 (3 CH_3 , Boc), 31.7 (CH_2 , Pro), 38.5 (CH_2 , Phe), 42.0 (CH_2N , Dpr), 47.8 (CH_2N , Pro), 50.4 (CH_α , Dpr), 57.4 (CH_α , Phe), 59.8 (CH_α , Pro), 66.0 (CH_2 , Allyl), 79.5 (O-C-(CH_3)₃), 116.4 (2 CH_{ar}), 118.3 ($\text{CH}_2=\text{CH}$, Allyl), 120.4 ($\text{CH}=\text{C}$, V- Δ Tyr), 127.3 (CH_{ar}), 127.5 (C_{ipso}), 129.2 (2 CH_{ar}), 130.4 (C_{ipso}), 130.5, 132.6 (4 CH_{ar}), 133.4 ($\text{CH}=\text{CH}_2$, Allyl), 135.1 ($\text{CH}=\text{CH}$, V- Δ Tyr), 139.1 (C_{ipso}), 141.2 ($\text{CH}=\text{CH}$, V- Δ Tyr), 156.8 ($\text{CH}=\text{C}$, V- Δ Tyr), 158.9 (NHCOO), 162.2 (NHCHO), 167.3 (NHCO , Phe), 169.6 (NHCO , V- Δ Tyr), 169.9 (NHCO , Dpr), 172.7 (CO_2 Allyl).

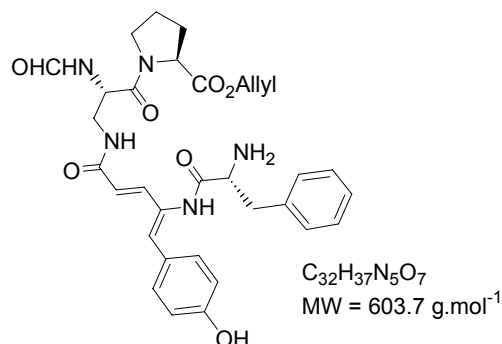
ESI-MS : m/z = 726 $[\text{MNa}]^+$, 704 $[\text{MH}]^+$, 604 $[\text{MH-Boc}]^+$.

HR-MS : m/z Calcd for $[\text{C}_{37}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_9+\text{Na}]^+$ 726.3115, Found 726.3108 (-1.0 ppm).

OR : $[\alpha]_D^{21} = -66.4$ ($c = 2.00$, CHCl_3)

EA : Calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_9 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 61.57; H, 6.56; N, 9.70; Found: C, 61.33; H, 6.48; N, 9.74.

D-Phe-V-ΔTyr-N^α-CHO-Dpr-Pro-OAllyl 277



Product **277** was obtained following the general procedure for Boc group removal, using:

-**275** (353 mg, 0.50 mmol)

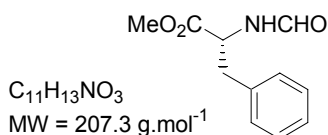
- CH_2Cl_2 -TFA (1/1; 14 mL)

The crude trifluoroacetate salt was taken up with water (40 mL) to give a solution at pH 2.0 and the solution was adjusted to pH 7.0 with a saturated NaHCO_3 solution. The resulting aqueous phase was extracted with EtOAc (3×20 mL), dried over MgSO_4 and evaporated under reduced pressure to afford the pure free amine **24** (299 mg, 0.49 mmol, **99%**) as a yellow solid which was used for the next step without further purification.

TLC $R_f = 0.00$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 9/1).

¹H NMR (acetone- d_6) δ (ppm) : 1.64-1.78 (m, 3H), 2.01 (m, 1H), 2.80 (m, 1H), 3.00 (m, 1H), 3.21 (m, 2H), 3.39 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.71-3.85 (m, 1H), 4.26 (m, 1H), 4.36 (m, 2H), 4.77 (m, 1H), 4.94 (t, $J = 8.5$ Hz, 1H), 5.07 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 5.66 (m, 1H), 5.77 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H), 6.51 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.61 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.98 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.00-7.22 (m, 7H), 7.47 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.92 (s, 1H).

¹³C NMR (acetone- d_6) δ (ppm) : 27.2 (CH_2), 31.7 (CH_2), 37.3 (CH_2), 41.8 (CH_2), 48.1 (CH_2), 50.2 (CH), 50.3 (CH), 59.8 (CH), 66.2 (CH_2), 116.5 (2 CH), 118.5 (CH_2), 122.1 (CH), 127.1 (C), 127.3 (CH), 129.2, 130.4 (4 CH), 130.6 (C), 132.1 (2 CH), 133.2 (CH), 135.2 (CH), 140.0 (C), 141.3 (CH), 159.4 (C), 162.4 (CH), 167.2 (C), 169.5 (C), 172.4 (C), 175.3 (C).

N^d-CHO-D-Phe-OMe 278

Formamide **278** was synthesised in two steps, firstly following the general procedure for the deprotection of Boc carbamate using :

-**N-Boc-D-Phe-OMe** (2.93 g, 9.27 mmol)

-CH₂Cl₂-TFA (1/1; 30 mL)

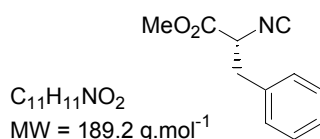
The crude trifluoroacetate salt was taken up in CH₂Cl₂ (50 mL) and washed with a Na₂CO₃ solution (10%; 5 mL) to afford pure free amine (2.0 g).

An aliquote of acetic anhydride (2.460 g, 2.30 mL, 24.10 mmol, 2.6 eq) was added slowly, under argon, to formic acid (99%; 1.10 mL, 29.7 mmol, 3.1 eq) at 0 °C. This reaction mixture was stirred at 0 °C for 10 min then heated at 55 °C for a further 2 h. This solution was cooled to 0 °C, diluted with THF (30 mL) and the crude compound **D-Phe-OMe** (2.0 g, 9.27 mmol, 1 eq) dissolved in THF (10 mL) was added. The reaction mixture was stirred for a further 1 h at rt. The THF was evaporated under reduced pressure to furnish the crude which was purified by cristalisation using Et₂O to afford in the mother liquor the product **280**. The solution of mother liquor was evaporated under reduced pressure to afford the desired pure product **280** as a white solid (1.910 g, 9.27 mmol, **Quant**).

TLC $R_f = 0.55$ (EtOAc/cyclohexane : 60/40).

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 2.96 (m, 2H), 3.51 (s, 3H), 4.88 (m, 1H), 6.32 (bs, 1H), 6.88 (m, 2H), 7.03-7.12 (m, 3H), 7.91 (s, 1H).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 37.7 (CH₂), 51.9 (CH₃), 52.5 (CH), 126.8 (C), 127.3 (CH), 128.3 (2 CH), 129.4 (2 CH), 135.5 (C), 161.0 (CH), 171.7 (C).

NC-D-Phe-OMe 279

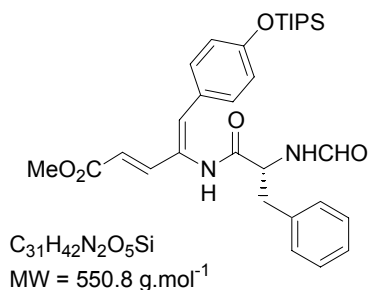
To a stirred solution of formamide **278** (311 mg, 1.5 mmol, 1 eq) and triethylamine (836 μ L, 6.0 mmol, 4 eq) in THF (5 mL) cooled to 0 °C under argon, phosphoryl chloride (147 μ L, 1.57 mmol, 1.5 eq) was added dropwise. The reaction mixture was stirred and allowed to warm to 0 °C over 1.5 h. The reaction was quenched with a mixture of CH₂Cl₂/saturated NaHCO₃ (2 mL/1 mL), and the aqueous layer extracted with CH₂Cl₂ (3 \times 5 mL). Combined organic layers were dried over MgSO₄ and evaporated to furnish the crude (316 mg). This crude was purified by short flash chromatography (length 5 cm) using CH₂Cl₂ to afford the pure desired product **279** as an orange-yellow foam (214 mg, 1.13 mmol, **75%**). TLC R_f = 0.80 (EtOAc/cyclohexane : 60/40).

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 3.12 (m, 2H, CH₂-Ph), 3.81 (s, 3H, O-CH₃), 4.39 (dd, J = 5.0 and 7.5 Hz, 1H, CH_a), 7.13-7.32 (m, 5H, CH_{ar}).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 38.9 (CH₂-Ph), 53.4 (O-CH₃), 58.0 (CH_a), 127.8 (CH_{ar}), 128.8 (2 CH_{ar}), 129.3 (2 CH_{ar}), 137.5 (C_{ipso}), 161.0 (-NC), 166.6 (CO₂Me).

OR : $[\alpha]_D^{25} = -0.30$ (c = 2.00, CHCl₃).

N^H-CHO-D-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **280**



Product **280** was synthesised in two steps, firstly following the general procedure for Boc group removal using :

-**256** (495 mg, 0.79 mmol)

-CH₂Cl₂-TFA (1/1; 8 mL)

The crude trifluoroacetate salt was taken up in CH₂Cl₂ (10 mL) and washed with a Na₂CO₃ solution (10%; 5 mL) to afford pure free amine (408 mg).

An aliquote of acetic anhydride (210 mg, 195 μ L, 2.06 mmol, 2.6 eq) was added slowly to formic acid (99%; 93 μ L, 2.46 mmol, 3.1 eq) at 0 °C under argon. This reaction mixture was stirred for 10 min at 0 °C then heated at 55 °C for a further 2 h. This solution was cooled to 0 °C, diluted with THF (3 mL) and the crude compound **280** (408 mg, 0.78 mmol, 1

eq) dissolved in THF (3 mL) was added. The reaction mixture was stirred for a further 1 h at rt. The THF was evaporated under reduced pressure to furnish the crude which was purified by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane : 1/1 to afford the desired pure product **280** as a white amorphous solid (384 mg, 0.70 mmol, **88%**).

TLC R_f = 0.29 (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

IR (KBr) : ν = 920, 1170, 1275, 1510, 1600, 1650, 1660, 2880, 2950, 3260 cm^{-1} .

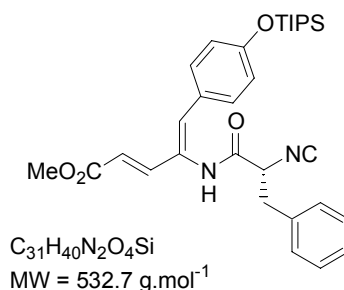
^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 1.01 (d, J = 7.0 Hz, 18H), 1.16 (hept, J = 7.0 Hz, 3H), 3.02 (dd, J = 6.8 and 13.5 Hz, 1H), 3.13 (dd, J = 8.0 and 13.5 Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 4.92 (m, 1H), 5.49 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 6.51 (s, 1H), 6.54 (bs, 1H), 6.67 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.09 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.17-7.24 (m, 6H, CH), 7.52 (s, 1H), 8.08 (bs, 1H).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 12.6 (3 CH), 17.9 (6 CH_3), 37.5 (CH_2), 51.6 (CH_3), 53.3 (CH), 116.8 (CH), 120.1 (2 CH), 126.9 (C), 127.3 (CH), 128.3 (C), 128.9, 129.3, 131.1 (6 CH), 134.8 (CH), 135.9 (C), 143.7 (CH), 157.1 (C), 161.3 (CH), 167.2 (C), 169.3 (C).

OR : $[\alpha]_D^{25} = +101.3$ (c = 1.35, CHCl_3).

CI-MS : m/z = 579 $[\text{MC}_2\text{H}_5]^+$, 551 $[\text{MH}]^+$.

NC-D-Phe-V-ATyr(OTIPS)-OMe 153



To a stirred solution of *N*-formyldipeptide **280** (161 mg, 0.29 mmol, 1 eq) and triethylamine (203 μL , 1.46 mmol, 5 eq) in CH_2Cl_2 (3 mL) cooled to -20°C under argon, phosphoryl chloride (41 μL , 0.44 mmol, 1.5 eq) was added dropwise. The reaction mixture was stirred and allowed to warm to 0°C over 1.5 h. The reaction was quenched with a mixture of CH_2Cl_2 /saturated NaHCO_3 (2 mL/1 mL), and the aqueous layer extracted with CH_2Cl_2 (3×10 mL). Combined organic layers were dried over MgSO_4 and evaporated to furnish the crude (201 mg). This crude was purified by short flash chromatography (length 5 cm) using EtOAc/cyclohexane 3/7 to afford the pure desired product **153** as a orange-yellow foam (91 mg, 0.17 mmol, **59%**).

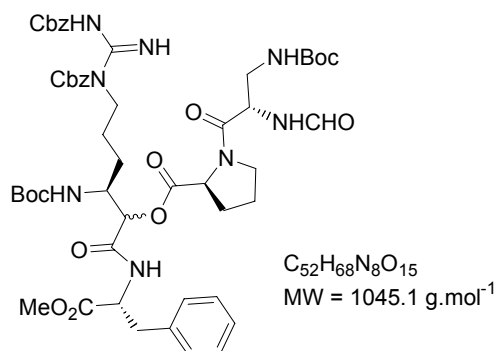
TLC R_f = 0.58 (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 1.02 (d, J = 7.2 Hz, 18H, 6 CH_3), 1.17 (hept, J = 7.2, Hz, 3H, 3 CH-Si), 3.23 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.68 (s, 3H, O- CH_3), 4.51 (dd, J = 4.7 and 6.9 Hz, 1H, CH_α), 5.57 (d, J = 15.5 Hz, 1H, CH=CH), 6.62 (s, 1H, CH=C), 6.71 (d, J = 8.6 Hz, 2H, CH_{ar}), 7.09 (d, J = 8.6 Hz, 2H, CH_{ar}), 7.20-7.35 (m, 6H, CH_{ar}), 7.47 (bs, 1H, NH).

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 12.6 (3 Si- CH), 17.9 (6 CH_3), 38.2 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 51.7 (O- CH_3), 59.9 (CH_α), 117.2 (CH=C), 120.5 (2 CH_{ar}), 126.4, 127.8 (2 C_{ipso}), 128.0 (CH_{ar}), 128.8, 129.8, 130.8, (6 CH_{ar}), 134.2 (C_{ipso}), 134.7 (CH=C), 142.8 (CH=C), 157.4 (CH=C), 163.0 (NHCO), 163.9 (-NC), 166.9 (CO_2Me).

VII.5. Experimental Procedures chapter V

N^{α} -Boc- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz)₂-H-[O-Pro- N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr]-Arg-D-Phe-OMe **287**



A mixture of dipeptide **160** (75 mg, 0.23 mmol, 1.3 eq), aldehyde **152a** (102 mg, 0.19 mmol, 1.1 eq) and isonitrile **279** (34 mg, 0.176 mmol, 1.0 eq) in CH₂Cl₂ (2 mL) with a drop of DMF at 0 °C under argon, was stirred briskly and allowed to warm to rt over 48 h. The reaction mixture was evaporated under reduced pressure to afford the crude residue (200 mg), which was purified by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane 8/2 to obtain the desired pure product **287** (supposed mixture of two diastereoisomers) as a yellow foam (101 mg, 0.097 mmol, **55%**).

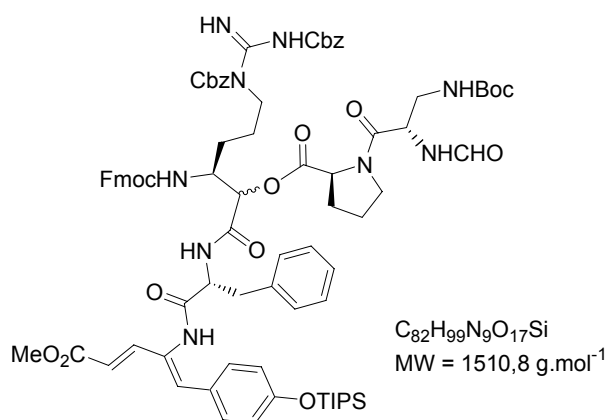
TLC R_f = 0.60 (EtOAc).

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.34 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 1.36 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 1.50-2.12 (m, 8H, CH₂ Pro+Arg), 3.05 (m, 3H, CH₂-Ph + CH₂N Dpr), 3.26 (m, 1H, CH₂N Dpr), 3.60 (s, 3 H, O-CH₃), 3.69 (m, 1H, CH_α H-Arg), 3.77 (m, 2H, CH₂N Pro), 3.87 (m, 2H, CH₂N Arg), 4.30 (bs, 1H, CH_α Pro), 4.71 (m, 1H, CH_α Phe), 4.97 (m, 1H, CH_α Dpr), 5.05 (s, 2H, CH₂ Cbz), 5.12 (m, 3H, CH_β -O H-Arg +CH₂ Cbz), 5.37 (bs, 1H, NH), 6.51 (bs, 1H, NH), 7.00-7.50 (m, 17H, 15CH_{ar} + 2NH), 8.11 (s, 1H, NCHO), 9.28 (bs, 1H, NH), 9.37 (bs, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 25.4 (2 CH₂, Pro+Arg), 28.3 (6 CH₃, Boc+t-Bu), 28.9 (2 CH₂, Pro+Arg), 37.4 (CH₂-Ph), 42.4 (CH₂N, Dpr), 44.4 (CH₂N, Arg), 47.4 (CH₂N, Pro), 49.7 (CH_α, Dpr), 51.6 (CH_α, H-Arg), 52.3 (O-CH₃), 53.5 (CH_α, Phe), 59.5 (CH_α, Pro), 67.0, 68.9 (2 CH₂, Cbz), 74.3 (CH_β, H-Arg), 79.4, 79.9 (2 O-C-(CH₃)₃), 126.9 (CH_{ar}), 127.9, 128.3, 128.5, 128.8, 129.2 (14 CH_{ar}), 134.7 (C_{ipso}, Cbz), 136.4 (C_{ipso}, Phe), 136.9 (C_{ipso}, Cbz), 155.4, 155.9 (2 NHCOO, Cbz), 160.6 (NHCOO, Boc), 161.0 (NHCHO), 163.6 (NHCNH), 163.1 (NHCO, Arg), 167.8 (NHCO, Phe), 168.9 (NHCO, Dpr), 170.8 (CO₂, Pro), 171.6 (CO₂Me).

ESI-MS : m/z = 1067 [MNa]⁺, 1045 [MH]⁺.

N^{α} -Fmoc- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz)₂-H-[O-Pro- N^{α} -CHO- N^{β} -Boc-Dpr]-Arg-D-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe **290**



A mixture of dipeptide **160** (10 mg, 0.030 mmol, 1.0 eq), aldehyde **152b** (20 mg, 0.19 mmol, 1.0 eq) and isonitrile **153** (16 mg, 0.030 mmol, 1.0 eq) in CH₂Cl₂ (2 mL) with a drop of DMF at 0 °C under argon, was stirred briskly whilst warming slowly to rt over 72 h. The reaction mixture was evaporated under reduced pressure to afford the crude residue (48 mg), which was purified by flash chromatography using EtOAc/cyclohexane 8/2 to obtain the desired pure product **290** (supposed mixture of two diastereoisomers) as a yellow foam (26 mg, 0.017 mmol, **57%**).

TLC R_f = 0.71 (EtOAc).

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 1.02 (d, J = 6.2 Hz, 18H, 6 $\underline{\text{CH}_3}$), 1.18 (m, 3H, 3 Si- $\underline{\text{CH}}$), 1.32 (s, 9H, O-C-($\underline{\text{CH}_3}$)₃), 1.50-1.66 (m, 6H, $\underline{\text{CH}_2}$ Pro+Arg), 1.70-1.98 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$ Pro+Arg), 2.75 (m, 1H, $\underline{\text{CH}_2}$ -Ph), 3.00 (m, 1H, $\underline{\text{CH}_2}$ -Ph), 3.23 (m, 1H, $\underline{\text{CH}_2}$ N Dpr), 3.32 (m, 1H, $\underline{\text{CH}_2}$ N Dpr), 3.59 (s, 1H, $\underline{\text{CH}_\alpha}$ H-Arg), 3.65 (s, 3 H, O- $\underline{\text{CH}_3}$), 3.78 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$ N Pro), 3.93 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$ N Arg), 4.04 (t, J = 7.0 Hz, 1H, Fmoc), 4.25 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$ Fmoc), 4.70 (m, 1H, $\underline{\text{CH}_\alpha}$ Pro), 4.90 (m, 1H, $\underline{\text{CH}_\alpha}$ Phe), 5.00 (m, 1H, $\underline{\text{CH}_\alpha}$ Dpr), 5.03 (m, 1H, $\underline{\text{CH}_\beta}$ -O H-Arg), 5.07 (s, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$ Cbz), 5.12 (m, 3H, $\underline{\text{NH}}+\underline{\text{CH}_2}$ Cbz), 5.65 (d, J = 15.5 Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}$ V- Δ Tyr), 6.73 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$), 7.00-7.35 (m, 27H, 23 $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}+4\underline{\text{NH}}$), 7.46 (t, J = 6.5 Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$ Fmoc), 7.64 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$ Fmoc), 8.10 (s, 1H, $\underline{\text{NCHO}}$), 9.05 (bs, 1H, $\underline{\text{NH}}$), 9.23 (bs, 1H, $\underline{\text{NH}}$).

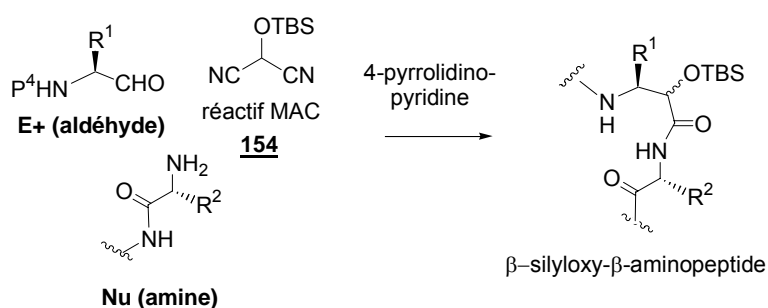
¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 12.6 (3 Si- $\underline{\text{CH}}$), 17.9 (6 $\underline{\text{CH}_3}$), 25.1, 25.7 (2 $\underline{\text{CH}_2}$, Pro+Arg), 28.1 (3 $\underline{\text{CH}_3}$, Boc), 29.3, 30.2 (2 $\underline{\text{CH}_2}$, Pro+Arg), 36.3 ($\underline{\text{CH}_2}$ -Ph), 42.0 ($\underline{\text{CH}_2}$ N, Dpr), 44.2 ($\underline{\text{CH}_2}$ N, Arg), 47.2 ($\underline{\text{CH}}$, Fmoc), 47.6 ($\underline{\text{CH}_2}$ N, Pro), 49.8 ($\underline{\text{CH}_\alpha}$, Dpr), 51.7 (O- $\underline{\text{CH}_3}$), 52.9 ($\underline{\text{CH}_\alpha}$ H-Arg), 55.1 ($\underline{\text{CH}_\alpha}$, Phe), 60.0 ($\underline{\text{CH}_\alpha}$, Pro), 66.8 ($\underline{\text{CH}_2}$, Fmoc), 67.1 ($\underline{\text{CH}_2}$, Cbz), 68.8 ($\underline{\text{CH}_2}$, Cbz), 74.4 ($\underline{\text{CH}_\beta}$ -O H-Arg), 79.8 (O- $\underline{\text{C}}-(\underline{\text{CH}_3})_3$), 116.6 ($\underline{\text{CH}}=\underline{\text{C}}$, V- Δ Tyr), 119.9, 120.4 (6 $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$), 125.1 ($\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$), 126.9 (2 $\underline{\text{C}_{\text{ipso}}}$), 127.0, 127.7, 128.3, 128.8, 129.3, 131.4 (20 $\underline{\text{CH}_{\text{ar}}}$), 134.7 ($\underline{\text{C}_{\text{ipso}_2}$ Cbz),

135.6 ($\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}$, V- Δ Tyr), 136.5 ($\underline{\text{C}}_{\text{ipso}}$, Phe), 136.8 ($\underline{\text{C}}_{\text{ipso}_2}$ Cbz), 141.2 (2 $\underline{\text{C}}_{\text{ipso}_2}$ Fmoc), 143.6, 143.9 (2 $\underline{\text{C}}_{\text{ipso}_2}$ Fmoc), 144.5 ($\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}$, V- Δ Tyr), 155.8, 156.0 (2 $\text{NH}\underline{\text{C}}\text{OO}$, Cbz), 157.4 ($\text{CH}=\underline{\text{C}}$, V- Δ Tyr), 160.6 (2 $\text{NH}\underline{\text{C}}\text{OO}$, Boc + Fmoc), 161.2 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{HO}$), 163.7 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{NHN}$), 163.9 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{O}$, Arg), 167.6 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{O}$, Phe), 169.0 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{O}$, Dpr), 169.6 ($\underline{\text{CO}}_2$, Pro), 171.5 ($\underline{\text{CO}}_2\text{Me}$).

ESI-MS : m/z = 1533 [MNa] $^+$, 1511 [MH] $^+$.

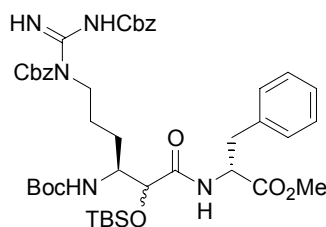
OR : $[\alpha]_D^{22} = +26.0$ ($c = 1.20$, CHCl_3).

General procedure for the MAC reaction



A mixture of **154** (2.4 mmol, 2.4 eq), aldehyde (1.0-1.2 mmol, 1.0-1.2 eq) and amine (1.0-1.2 mmol, 1.0-1.2 eq) in the designated solvent (THF, CH_3CN or Et_2O ; 70-100 mL) was stirred briskly under argon in the presence of 4-pyrrolidinopyridine (from 1 mmol to 1.2 mmol, 1.0 eq to 1.2 eq) under specified conditions (time and temperature). Then the reaction mixture was evaporated under reduced pressure to afford the crude residue, which was purified by flash chromatography.

N^{δ} -Boc- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz) $_2$ -H-(O-TBS)-Arg-D-Phe-OMe **302**



$\text{C}_{44}\text{H}_{61}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{Si}$
MW = 848.1 g.mol $^{-1}$

Product **302** was synthesised according to the general procedure for the MAC reaction in Et₂O for 24 h at -25 °C followed by 24 h at 0 °C, using:

- MAC reagent **154** (30 mg, 0.15 mmol, 2.0 eq)
- aldehyde **152a** (40 mg, 0.076 mmol, 1.0 eq)
- amine, **D-Phe-OMe** (17 mg, 0.091 mmol, 1.2 eq)
- 4-pyrrolidinopyridine (12 mg, 0.076 mmol, 1.0 eq)
- Et₂O (5 mL)

The crude (82 mg) was purified immediately by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 3/7 to 2/8 to obtain the desired pure product **302** (mixture of two diastereoisomers detected) as a yellow foam (31 mg, 0.036 mmol, **48%**).

TLC R_f = 0.85 (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

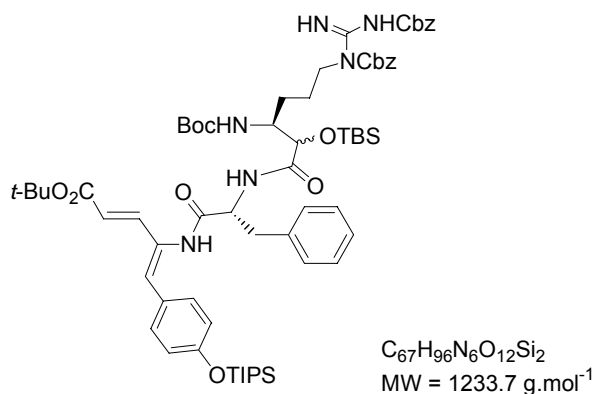
¹H NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 0.00 (d, J = 7.1 Hz, 6H, 2 CH_3Si), 0.79 (s, 9H, Si-C-(CH_3)₃), 1.40 (s, 9H, O-C-(CH_3)₃), 1.52-1.73 (m, 4H, CH_2 H-Arg), 2.96 (dd, J = 6.0 and 14.0 Hz, 1H, CH_2 -Ph), 3.03 (dd, J = 6.0 and 14.0 Hz, 1H, CH_2 -Ph), 3.59 (s, 3 H, O- CH_3), 3.69 (m, 1H, CH_α H-Arg), 3.89 (m, 2H, CH_2N H-Arg), 4.51 (m, 1H, CH_α Phe), 4.82 (m, 1H, CH_β H-Arg), 5.01 (s, 2H, CH_2 Cbz), 5.21 (m, 2H, CH_2 Cbz), 5.48 (bs, 1H, NH), 7.03-7.44 (m, 16H, 15 CH_{ar} + NH), 9.18 (bs, 1H, NH), 9.37 (bs, 1H, NH).

¹³C NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : -5.0 (2 CH_3 -Si), 18.5 (Si-C-(CH_3)₃), 26.1 (3 CH_3 , Si-C-(CH_3)₃), 26.6 (CH_2 , H-Arg), 28.4 (CH_2 , H-Arg), 28.7 (3 CH_3 , Boc), 38.7 (CH_2 -Ph), 45.4 (CH_2N , H-Arg), 52.4 (CH_α , H-Arg), 53.0 (O- CH_3), 54.6 (CH_α , Phe), 67.2, 69.3 (2 CH_2 , Cbz), 75.1 (CH-O , H-Arg), 79.0 (O-C-(CH_3)₃), 127.3, 127.6, 127.9, 128.5, 128.8, 128.9, 129.4, 129.9, 130.2 (15 CH_{ar}), 136.5 (C_{ipso} , Phe), 137.1, 138.5 (2 C_{ipso} , Cbz), 156.2, 156.7 (2 NHCOO , Cbz), 161.5 (NHCOO , Boc), 164.6 (NHCNHN), 171.6 (NHCO , H-Arg), 172.1 (CO_2Me).

ESI-MS : m/z = 870 [MNa]⁺, 848 [MH]⁺.

LC-MS : m/z = 848 [MH]⁺, Two diastereoisomers were detected on reversed-phase HPLC using a C₁₈ column and a mobile phase of MeOH/H₂O 9/1, $t_{\text{R}1}$ = 6.20 min (major product, *syn*-**302**) and $t_{\text{R}2}$ = 8.11 min (minor product, *anti*-**302**) with a ratio 79/21.

***N*^α-Boc-*N*^δ, *N*^ε-(Cbz)₂-H-(O-TBS)-Arg-D-Phe-V-ΔTyr(OTIPS)-Ot-Bu 303**



Product **303** was synthesised according to the general procedure for the MAC reaction in Et₂O for 24 h at -25 °C followed by 24 h at 0 °C, using:

- MAC **154** (30 mg, 0.15 mmol, 2.0 eq)
- aldehyde **152a** (40 mg, 0.076 mmol, 1.0 eq)
- amine, **267** (51 mg, 0.091 mmol, 1.2 eq)
- 4-pyrrolidinopyridine (12 mg, 0.076 mmol, 1.0 eq)
- Et₂O (5 mL)

The crude (142 mg) was immediately purified by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 3/7 to 2/8 to obtain the desired pure product **303** (supposed mixture of two diastereoisomers) as a yellow foam (46 mg, 0.037 mmol, **49%**).

TLC R_f = 0.71 (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

¹H NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 0.00 (s, 3H, CH₃Si), 0.02 (s, 3H, CH₃Si), 0.82 (s, 9H, Si-C-(CH₃)₃), 1.04 (d, J = 6.2 Hz, 18H, 6 CH₃), 1.28 (m, 3H, 3 Si-CH), 1.33 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 1.42 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 1.52-1.88 (bs, 4H, CH₂ H-Arg), 3.03 (dd, J = 6.0 and 14.0 Hz, 1H, CH₂-Ph), 3.21 (dd, J = 6.0 and 14.0 Hz, 1H, CH₂-Ph), 3.71 (m, 1H, CH_{\alpha} H-Arg), 3.89 (m, 2H, CH₂N H-Arg), 4.29 (m, 1H, CH_{\alpha} Phe), 5.00 (m, 1H, CH_{\beta} H-Arg), 5.08 (m, 2H, CH₂ Cbz), 5.29 (m, 3H, CH₂ Cbz+ NH), 5.70 (d, J = 15.5 Hz, 1H, CH=CH V- Δ Tyr), 6.80 (s, 1H, CH=C), 6.85 (d, J = 8.6 Hz, 2H, CH_{ar}), 7.12-7.53 (m, 20H, 18 CH_{ar} + 2 NH), 9.21 (bs, 1H, NH), 9.44 (bs, 1H, NH).

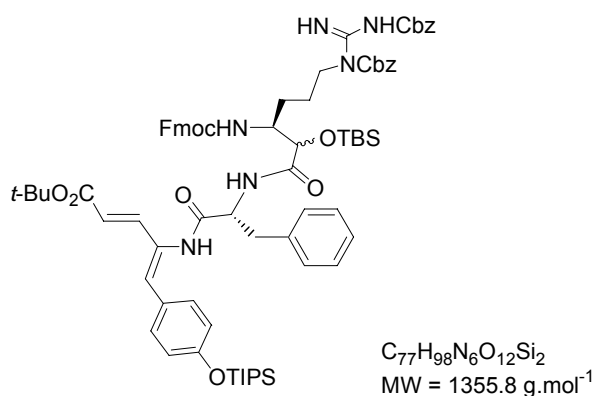
¹³C NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : -5.0 (2 CH₃-Si), 13.4 (3 CH-Si), 18.3 (6 CH₃-CH-Si), 18.7 (Si-C-(CH₃)₃), 26.2 (3 CH₃-C-Si), 26.5 (CH₂, H-Arg), 27.8 (CH₂, H-Arg), 28.4, 28.6 (6 CH₃, Boc+*t*-Bu), 38.8 (CH₂-Ph), 45.5 (CH₂N, H-Arg), 52.3 (CH_{\alpha}, H-Arg), 54.7 (CH_{\alpha}, Phe), 67.2, 69.4 (2 CH₂, Cbz), 75.1 (CH_{\beta}-O, H-Arg), 79.0, 80.3 (2 O-C-(CH₃)₃), 120.0 (CH=C, V- Δ Tyr), 120.7 (2 CH_{ar}), 127.9 (CH_{ar}), 127.8, 128.5, 128.8, 129.2, 129.5, 130.3 (12 CH_{ar}), 130.9 (2 C_{ipso}, V- Δ Tyr), 132.3 (4 CH_{ar}), 137.7 (CH=CH, V- Δ Tyr), 136.2 (C_{ipso}, Phe), 137.7, 138.5 (2

$\underline{\text{C}}_{\text{ipso}}$, Cbz), 144.3 ($\underline{\text{CH}}=\text{CH}$, V- Δ Tyr), 156.3 ($\text{CH}=\underline{\text{C}}$, V- Δ Tyr), 156.7, 157.5 (2 $\text{NH}\underline{\text{C}}\text{OO}$, Cbz), 161.5 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{OO}$, Boc), 163.9 ($\text{NHC}\underline{\text{NHN}}$), 166.6 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{O}$, Phe), 170.3 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{O}$, H-Arg), 172.4 ($\underline{\text{C}}\text{O}_2t\text{-Bu}$).

ESI-MS : m/z = 1256 $[\text{MNa}]^+$, 1234 $[\text{MH}]^+$, 799 $[\text{MNa}-\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_6]^+$, 777 $[\text{MH}-\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_6]^+$.

OR : $[\alpha]_D^{22} = -3.0$ ($c = 2.00$, CHCl_3).

N^{α} -Fmoc- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz) $_2$ -H-(O-TBS)-Arg-D-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-Ot-Bu 304



Product **304** was synthesised according to the general procedure for the MAC reaction in THF for 24 h at $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ followed by 24 h at $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, using:

- MAC reagent **154** (19 mg, 0.10 mmol, 2.0 eq)
- aldehyde **152b** (31 mg, 0.045 mmol, 1.0 eq)
- amine **267** (40 mg, 0.057 mmol, 1.2 eq)
- 4-pyrrolidinopyridine (9 mg, 0.045 mmol, 1.0 eq)
- THF (5 mL)

The crude (120 mg) was immediately purified by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 3/7 to 2/8 to obtain the desired pure product **304** (supposed mixture of two diastereoisomers) as a yellow foam (46 mg, 0.033 mmol, **70%**).

TLC $R_f = 0.63$ (EtOAc/cyclohexane : 1/1).

^1H NMR (acetone- d_6) δ (ppm) : 0.00 (s, 3H, $\underline{\text{CH}}_3\text{Si}$), 0.03 (s, 3H, $\underline{\text{CH}}_3\text{Si}$), 0.86 (d, $J = 9.6$ Hz, 9H, Si-C-($\underline{\text{CH}}_3$) $_3$), 1.08 (d, $J = 10.0$ Hz, 18H, 6 $\underline{\text{CH}}_3$), 1.27 (m, 3H, 3 Si- $\underline{\text{CH}}$), 1.47 (s, 9H, O-C-($\underline{\text{CH}}_3$) $_3$), 1.54-1.88 (bs, 4H, $\underline{\text{CH}}_2$ Arg), 3.06 (m, 2H, $\underline{\text{CH}}_2$ -Ph), 3.59 (s, 1H, $\underline{\text{CH}}_{\alpha}$ H-Arg), 4.14 (m, 2H, $\underline{\text{CH}}_2$ N H-Arg), 4.20 (m, 1H, $\underline{\text{CH}}$ Fmoc), 4.25 (m, 2H, $\underline{\text{CH}}_2$ Fmoc), 4.37 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}_{\alpha}$ Phe), 5.04 (bs, 1H, $\underline{\text{CH}}_{\beta}$ H-Arg), 5.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}}_2$ Cbz), 5.25 (d, $J = 9.3$

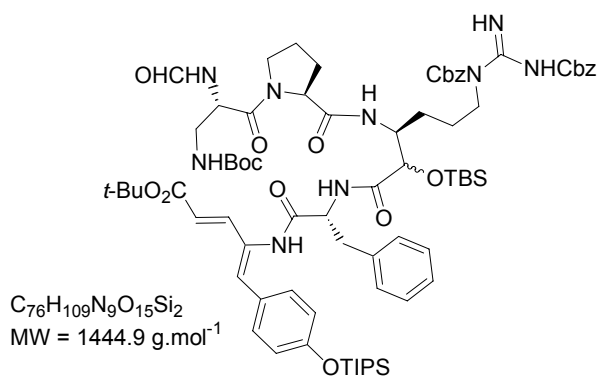
Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$ Cbz), 5.63 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}=\text{CH}$ V- Δ Tyr), 6.81 (s, 1H, $\underline{\text{CH}}=\text{C}$), 6.86 (d, $J = 11.0$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$), 7.05-7.49 (m, 25H, 22 $\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$ + 3 $\underline{\text{NH}}$), 7.62 (m, 2H, $\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$ Fmoc), 7.81 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$ Fmoc), 9.28 (bs, 1H, $\underline{\text{NH}}$), 9.48 (bs, 1H, $\underline{\text{NH}}$).

^{13}C NMR (acetone- d_6) δ (ppm) : -5.2 ($\underline{\text{CH}_3}$ -Si), -4.8 ($\underline{\text{CH}_3}$ -Si), 13.4 (3 $\underline{\text{CH}}$ -Si), 18.2 (6 $\underline{\text{CH}_3}$ -CH-Si), 20.2 (Si- $\underline{\text{C}}$ -(CH_3)₃), 26.2 (3 $\underline{\text{CH}_3}$ -C-Si), 26.3 ($\underline{\text{CH}_2}$, H-Arg), 27.3 ($\underline{\text{CH}_2}$, H-Arg), 28.3 (3 $\underline{\text{CH}_3}$, t -Bu), 37.4 ($\underline{\text{CH}_2}$ -Ph), 45.1 ($\underline{\text{CH}_2}$ N, H-Arg), 48.0 ($\underline{\text{CH}}$, Fmoc), 55.4 ($\underline{\text{CH}}_{\alpha}$, Phe), 61.3 ($\underline{\text{CH}}_{\alpha}$, H-Arg), 67.0 ($\underline{\text{CH}_2}$, Fmoc), 67.2, 69.3 (2 $\underline{\text{CH}_2}$, Cbz), 74.6 ($\underline{\text{CH}}_{\beta}$ -O, H-Arg), 80.5 (O- $\underline{\text{C}}$ -(CH_3)₃), 120.0 ($\underline{\text{CH}}=\text{C}$, V- Δ Tyr), 120.2, 120.7 (6 $\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$), 126.2 ($\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$), 127.6, 127.9 (4 $\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$), 128.5 ($\underline{\text{C}}_{\text{ipso}}$, V- Δ Tyr), 128.7, 128.8, 129.0, 129.2, 129.5, 130.2, 130.4 (10 $\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$), 131.2 ($\underline{\text{C}}_{\text{ipso}}$, V- Δ Tyr), 131.9, 132.4 (6 $\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$), 136.5 ($\underline{\text{C}}_{\text{ipso}}$, Phe), 137.6 ($\underline{\text{CH}}=\text{CH}$, V- Δ Tyr), 138.5, 139.0 (2 $\underline{\text{C}}_{\text{ipso}}$, Cbz), 142.1 (2 $\underline{\text{C}}_{\text{ipso}}$, Fmoc), 142.6 ($\underline{\text{CH}}=\text{CH}$, V- Δ Tyr), 144.9, 145.1 (2 $\underline{\text{C}}_{\text{ipso}}$, Fmoc), 156.6 ($\text{CH}=\underline{\text{C}}$, V- Δ Tyr), 157.5, 157.9 (2 $\text{NH}\underline{\text{C}}\text{OO}$, Cbz), 161.4 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{OO}$, Fmoc), 164.2 (NHCNHN), 166.4 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{O}$, Phe), 172.3 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{O}$, H-Arg), 174.3 ($\underline{\text{CO}_2}$ t -Bu).

ESI-MS : $m/z = 1378$ $[\text{MNa}]^+$, 1356 $[\text{MH}]^+$, 921 $[\text{MNa}-\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_6]^+$, 899 $[\text{MH}-\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_6]^+$.

HR-MS : m/z Calcd for $[\text{C}_{77}\text{H}_{98}\text{N}_6\text{O}_{12}\text{Si}_2+\text{Na}]^+ 1377.6679$, Found 1377.6689 (+0.7 ppm).

N^{L} -Boc- N^{Q} -CHO-Dpr-Pro- N^{D} , N^{E} -(Cbz)₂-H-(O -TBS)-Arg- D -Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)- O - t -Bu 306



a). Preparation of **306** by peptide coupling :

Product **305** was synthesised following the general procedure for Fmoc group removal, using:

-**304** (40 mg, 0.029 mmol)

-diethylamine (633 μL , 462 eq)

-CH₃CN (1.2 mL)

The crude amine (40 mg, 0.029 mmol, **quant.**) was isolated as a yellow foam and used without further purification for the next step.

TLC R_f = 0.32 (EtOAc/cyclohexane : 3/7).

Product **306** was synthesised following the general procedure for the peptide coupling with EDCi/HOBt (18 h), using :

-**305** (40 mg, 0.029 mmol, 1 eq)

-HOBt (6 mg, 0.043 mmol, 1.5 eq)

-CH₂Cl₂ (5 mL)

-dipeptide **160** (12 mg, 0.035 mmol, 1.2 eq)

-EDCi (8 mg, 0.043 mmol, 1.5 eq)

Product **306** was obtained after purification by flash chromatography using a gradient of CH₂Cl₂/MeOH from 100/0 to 95/5 as a yellow foam (25 mg, 0.017 mmol, **60%**).

b) Preparation *via* the MAC reaction

Product **306** was synthesised according to the general procedure for the “MAC” reaction in CH₃CN for 15 h at 0 °C, using:

-MAC reagent **154** (8 mg, 0.041 mmol, 2.0 eq)

-aldehyde **157** (15 mg, 0.020 mmol, 1.0 eq)

-amine **267** (14 mg, 0.024 mmol, 1.2 eq)

-4-pyrrolidinopyridine (3 mg, 0.02 mmol, 1.0 eq)

-CH₃CN (5 mL)

The crude was immediately purified by flash chromatography using a gradient of CH₂Cl₂/MeOH from 95/5 to 9/1 to obtain the desired pure product **306** (supposed mixture of two diastereoisomers) as a yellow foam (18 mg, 0.012 mmol, **59%**).

TLC R_f = 0.53 (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1).

IR (KBr) : ν = 701, 987, 1172, 1247, 1277, 1370, 1448, 1511, 1602, 1652, 2979, 3302 cm⁻¹.

¹H NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 0.00 (s, 3H, CH₃-Si), 0.03 (s, 3H, CH₃-Si), 0.78 (s, 9H, Si-C-(CH₃)₃), 0.98 (d, J = 6.2 Hz, 18H, Si-(CH-(CH₃)₂)₃), 1.15 (m, 3H, 3 Si-CH), 1.26 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 1.35 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 1.47-1.95 (m, 8H, 2 CH₂ Arg+ 2 CH₂ Pro), 2.97 (bs, 2H, CH₂-Ph), 3.07-3.15 (m, 2H, CH₂N Dpr), 3.57 (d, J = 6.0 Hz, 2H, CH₂N Pro), 3.65 (bs, 1H, CH_α H-Arg), 3.88 (m, 2H, CH₂N H-Arg), 4.00 (dd, J = 4.2 and 7.6 Hz, 1H, CH_α Pro), 4.25

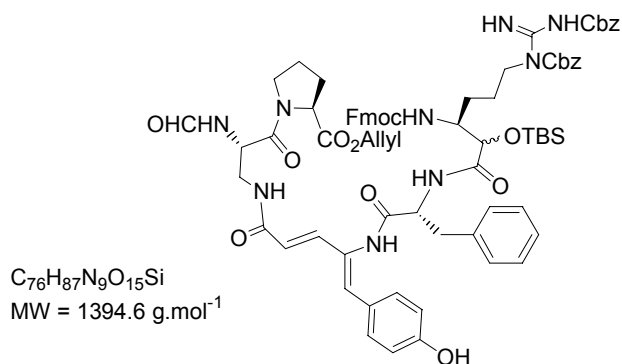
(m, 1H, $\underline{\text{CH}}_{\alpha}$ Phe), 4.75 (m, 1H, $\underline{\text{CH}}_{\alpha}$ Dpr), 4.87 (dd, $J = 6.1$ and 8.0 Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}_{\beta}$ H-Arg), 4.98 (bs, 2H, $\underline{\text{CH}}_2$ Cbz), 5.17 (m, 3H, $\underline{\text{CH}}_2$ Cbz+ $\underline{\text{NH}}$), 5.57 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}$ V- Δ Tyr), 6.68 (s, 1H, $\underline{\text{CH}}=\underline{\text{C}}$), 6.73 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$), 7.12-7.47 (m, 22H, 17 $\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$ + $\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}$ V- Δ Tyr+4 $\underline{\text{NH}}$), 8.08 (s, 1H, $\underline{\text{NHCHO}}$), 9.21 (bs, 1H, $\underline{\text{NH}}$), 9.44 (bs, 1H, $\underline{\text{NH}}$). ^{13}C NMR (acetone- d_6) δ (ppm) : -5.0 (2 $\underline{\text{CH}}_3$ -Si), 13.4 (3 $\underline{\text{CH}}$ -Si), 18.3 (6 $\underline{\text{CH}}_3$ -CH-Si), 18.7 (Si- $\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_3$), 25.6 (2 $\underline{\text{CH}}_2$, Arg+Pro), 26.2 (3 $\underline{\text{CH}}_3$ -C-Si), 26.4 ($\underline{\text{CH}}_2$, Arg), 28.6 ($\underline{\text{CH}}_2$, Pro), 28.6 (6 $\underline{\text{CH}}_3$, Boc+ t -Bu), 38.9 ($\underline{\text{CH}}_2$ -Ph), 43.6 ($\underline{\text{CH}}_2$ N, Dpr), 45.1 ($\underline{\text{CH}}_2$ N, H-Arg), 48.1 ($\underline{\text{CH}}_2$ N, Pro), 50.0 ($\underline{\text{CH}}_{\alpha}$, Dpr), 53.2 ($\underline{\text{CH}}_{\alpha}$, Phe), 60.8 (2 $\underline{\text{CH}}_{\alpha}$, Pro+H-Arg), 67.2, 69.4 (2 $\underline{\text{CH}}_2$, Cbz), 74.3 ($\underline{\text{CH}}_{\beta}$ -O, H-Arg), 79.7, 80.3 (2 O- $\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_3$), 120.8 ($\underline{\text{CH}}=\underline{\text{C}}$, V- Δ Tyr), 121.0 (2 $\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$), 127.6 ($\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$), 128.5, 128.8, 129.0, 129.2, 129.6, 130.2 (16 $\underline{\text{CH}}_{\text{ar}}$), 130.8 (2 $\underline{\text{C}}_{\text{ipso}}$, V- Δ Tyr), 136.2 ($\underline{\text{C}}_{\text{ipso}}$, Phe), 137.5 ($\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}$, V- Δ Tyr), 137.7, 138.5 (2 $\underline{\text{C}}_{\text{ipso}}$, Cbz), 143.2 ($\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}$, V- Δ Tyr), 156.3 ($\underline{\text{CH}}=\underline{\text{C}}$, V- Δ Tyr), 156.7, 157.3 (2 $\underline{\text{NHCOO}}$, Cbz), 160.6 ($\underline{\text{NHCOO}}$, Boc), 161.2 ($\underline{\text{NHCHO}}$), 163.6 ($\underline{\text{NHCNH}}$), 166.6 ($\underline{\text{NHCO}}$, Phe), 169.0 ($\underline{\text{NHCO}}$, Dpr), 170.1 ($\underline{\text{NHCO}}$, Pro), 171.4 ($\underline{\text{NHCO}}$, H-Arg), 172.1 ($\underline{\text{CO}}_2t$ -Bu).

ESI-MS : $m/z = 1445$ $[\text{MH}]^+$, 1010 $[\text{MNa}-\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_6]^+$, 988 $[\text{MH}-\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_6]^+$.

HR-MS : m/z Calcd for $[\text{C}_{76}\text{H}_{109}\text{N}_9\text{O}_{15}\text{Si}_2+\text{Na}]^+$ 1466.7479, Found 1466.7522 (+2.9 ppm).

EA : Calcd for $\text{C}_{76}\text{H}_{109}\text{N}_9\text{O}_{15}\text{Si}_2$: C, 63.17 ; H, 7.60; N, 8.72 ; Found: C, 63.20 ; H, 7.65; N, 8.86.

N^{α} -Fmoc- N^{δ} , N^{ϵ} -(Cbz) $_2$ -H-(O-TBS)-Arg- D -Phe-V- Δ Tyr- N^{α} -CHO-Dpr-Pro-OAllyl 307



Product **307** was synthesised according to the general procedure for the MAC reaction in THF for 24 h at -25 °C followed by 24 h at 0 °C, using:

- MAC reagent **154** (69 mg, 0.35 mmol, 2.4 eq)
- aldehyde **152b** (114 mg, 0.17 mmol, 1.2 eq)
- amine **277** (88 mg, 0.15 mmol, 1.0 eq)
- 4-pyrrrolidinopyridine (26 mg, 0.17 mmol, 1.2 eq)

-THF (15 mL)

The crude (300 mg) was immediately purified by flash chromatography using a gradient of CH₂Cl₂/MeOH from 100/0 to 9/1 to obtain the desired pure product **307** (supposed mixture of two diastereoisomers) as a yellow foam (92 mg, 0.066 mmol, **45%**).

TLC R_f = 0.18 (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5).

IR (KBr) : ν = 681, 741, 1006, 1099, 1225, 1450, 1512, 1610, 1643, 1721, 2953, 3390 cm⁻¹.

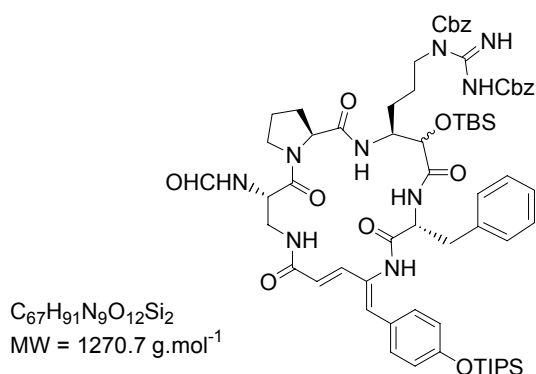
¹H NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 0.00 (s, 3H, CH₃Si), 0.02 (s, 3H, CH₃Si), 0.79 (s, 9H, Si-C-(CH₃)₃), 1.18-1.75 (m, 4H, CH₂ Arg+Pro), 1.84-2.09 (m, 4H, CH₂ Arg+Pro), 2.71-3.09 (m, 2H, CH₂-Ph), 3.12-3.38 (m, 2H, CH₂N Dpr), 3.52 (m, 1H, CH_α H-Arg), 3.57-3.92 (m, 5H, 2 CH₂N Pro+Arg, CH Fmoc), 4.08 (m, 2H, CH₂ Fmoc), 4.23 (m, 1H, CH_α Phe), 4.36 (m, 1H, CH_α Pro), 4.46 (bs, 2H, CH₂-Allyl), 4.82 (m, 1H, CH_α Dpr), 4.86 (m, 1H, CH_β H-Arg), 4.98 (m, 3H, CH₂ Cbz+CH₂=CH), 5.16 (m, 3H, CH₂ Cbz+CH₂=CH), 5.90 (m, 1H, CH₂=CH), 6.02 (d, J = 15.5 Hz, 1H, CH=CH V-ΔTyr), 6.69 (s, 1H, CH=C), 6.75 (d, J = 8.0 Hz, 2H, CH_{ar}), 7.12-7.47 (m, 28H, 22 CH_{ar}+CH=CH V-ΔTyr+5 NH+OH), 7.58 (m, 2H, CH_{ar} Fmoc), 7.76 (d, J = 6.5 Hz, 2H, CH_{ar} Fmoc), 8.07 (bs, 1H, NHCHO), 9.22 (bs, 1H, NH), 9.45 (bs, 1H, NH).

¹³C NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : -4.7 (2 CH₃-Si), 18.6 (Si-C-(CH₃)₃), 25.6 (2 CH₂, Arg+Pro), 26.0 (3 CH₃-C-Si), 26.4 (CH₂, Arg), 31.7 (CH₂, Pro), 39.2 (CH₂-Ph), 42.1 (CH₂N, Dpr), 45.4 (CH₂N, H-Arg), 47.9 (CH₂N, Pro), 48.1 (CH, Fmoc), 50.4 (CH_α, Dpr), 55.5 (CH_α, Phe), 59.8 (2 CH_α, Pro+H-Arg), 66.1 (CH₂-Allyl), 67.2 (CH₂, Fmoc), 67.3, 69.5 (2 CH₂, Cbz), 75.3 (CH_β-O, H-Arg), 116.4 (4 CH_{ar}), 118.3 (CH₂=CH, Allyl), 120.2 (2 CH_{ar}), 120.4 (CH=C, V-ΔTyr), 126.2 (CH_{ar}), 127.6 (C_{ipso}, V-ΔTyr), 127.9, 128.5, 128.9, 129.2, 129.3 (14 CH_{ar}), 130.3 (C_{ipso}, V-ΔTyr), 130.4, 131.9, 132.1 (6 CH_{ar}), 133.3 (CH₂=CH, Allyl), 134.9 (CH=CH, V-ΔTyr), 136.5, 137.9 (2 C_{ipso}, Cbz), 138.4 (C_{ipso}, Phe), 141.7 (CH=CH, V-ΔTyr), 142.1 (2 C_{ipso}, Fmoc), 144.9, 145.2 (2 C_{ipso}, Fmoc), 156.7, 157.0 (2 NHCOO, Cbz), 158.9 (CH=C, V-ΔTyr), 161.5 (NHCOO, Fmoc), 162.1 (NHCHO), 164.7 (NHCNH), 167.2 (NHCO, Phe), 169.6 (NHCO, Dpr), 170.6 (NHCO, V-ΔTyr), 171.9 (NHCO, H-Arg), 172.1 (CO₂Allyl).

ESI-MS : m/z = 1417 [MNa]⁺, 1395 [MH]⁺, 1283 [MNa-Cbz]⁺.

HR-MS : m/z Calcd for [C₇₆H₈₇N₉O₁₅Si+H]⁺ 1394.6169, Found 1394.6198 (+2.1 ppm).

OR : $[\alpha]_D^{22}$ = +4.1 (c = 1.40, CHCl₃).

Cyclo[*N*^δ-CHO-Dpr-Pro-*N*^δ, *N*^ε-(Cbz)₂-H-(*O*-TBS)-Arg-*D*-Phe-V-ΔTyr(OTIPS)] **309**

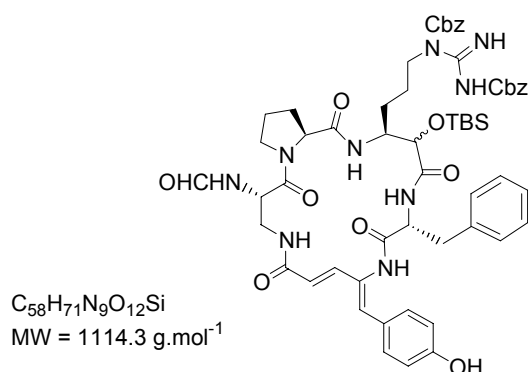
The protected pentapeptide **306** (28 mg, 0.019 mmol, 1 eq) was treated with a solution of CH₂Cl₂-TFA (1/1; 540 μL) at 0 °C for 1 h, then solvents were evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in and concentrated from CH₂Cl₂ (3×5 mL) to furnish the trifluoroacetate salt. This residue was dissolved in CH₂Cl₂ (10 mL) and washed successively with a solution of NaHCO₃ (pH 8; 5 mL) and with water (5 mL). The organic phase was dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude *N,C*-terminal deprotected pentapeptide (25 mg, 0.019 mmol, **quant.**). This material was used without further purification for the macrocyclisation.

The crude (25 mg, 0.019 mmol) was dissolved in a mixture of CH₂Cl₂ and DMF (2/1; 2 mL; 0.01 M) under argon at 0 °C. Successively, TBTU **21** (9 mg, 0.028 mmol, 1.45 eq) and HOBt **12** (0.3 mg, 0.002 mmol, 0.13 eq) were added and the solution was stirred briskly and allowed to warm to rt over 24 h. The solvent was evaporated under reduced pressure to afford the crude residue (35 mg) which was purified by flash chromatography using a gradient of CH₂Cl₂/MeOH from 100/0 to 9/1 to obtain the desired pure macrocycle **309** (supposed mixture of two diastereoisomers) as a pale yellow foam (9 mg, 0.007 mmol, **37%**).

TLC *R_f* = 0.38 (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5).

¹H NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 0.03 (s, 6H), 0.79 (s, 9H), 0.98 (d, *J* = 6.5 Hz, 18H), 1.15 (m, 3H), 1.22-1.95 (m, 8H), 3.10-3.25 (m, 2H), 3.25-3.38 (m, 2H), 3.45 (m, 1H), 3.70 (m, 2H), 3.88 (m, 2H), 4.05 (m, 1H), 4.28 (m, 1H), 4.82 (m, 1H), 4.99 (m, 3H), 5.19 (m, 2H), 5.96 (m, 1H), 6.78 (m, 3H), 7.12-7.65 (m, 23H), 7.02 (bs, 1H), 9.16 (bs, 1H), 9.28 (bs, 1H).

ESI-MS : *m/z* = 1271 [MH]⁺.

Cyclo[*N*^δ-CHO-Dpr-Pro-*N*^δ,*N*^ε-(Cbz)₂-H-(*O*-TBS)-Arg-*D*-Phe-V-ΔTyr] **311**

The protected pentapeptide **307** (28 mg, 0.020 mmol, 1 eq) was treated with CH₃CN-NHEt₂ (2/1; 1 mL) at 0 °C for 30 min and a further 30 min at rt. Then solvents were evaporated under reduced pressure and the residue was dissolved in and concentrated three times from CH₂Cl₂ (3×40 mL) to furnish the crude *N*-deprotected pentapeptide (26 mg), which was used without further purification. The crude (26 mg) was dissolved in THF (500 μL) under argon and successively tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (3 mg, 0.0026 mmol, 0.13 eq) then morpholine (3 μL, 0.033 mmol, 1.6 eq) were added. The reaction mixture was stirred at rt for 2 h, then evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in CH₂Cl₂ (10 mL) and washed successively with a solution of H₂SO₄ (3%; 5 mL) and a saturated NaCl solution (5 mL) then the organic phase was dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude. The crude was washed with acetone (5 mL) in order to remove some phosphine by-product, which afford the crude *N,C*-terminal deprotected pentapeptide as a yellow amorphous solid (22 mg, 0.019 mmol, **88% for 2 steps**).

The crude (22 mg, 0.019 mmol, 1 eq) was dissolved in CH₂Cl₂ (2 mL; 0.01 M) under argon at 0 °C. Successively, the FDPP **28** (15 mg, 0.039 mmol, 2.0 eq) and diisopropylethylamine (17 μL, 0.097 mmol, 5.0 eq) were added and the solution was stirred briskly and allowed to warm to rt over 48 h. The solvent was evaporated under reduced pressure to afford the crude residue (22 mg) which was purified by flash chromatography using a gradient of CH₂Cl₂/MeOH from 100/0 to 9/1 to afford the desired pure macrocycle **311** (supposed mixture of two diastereoisomers) as a pale yellow foam (12 mg, 0.011 mmol, **59%**). The macrocycle has been obtained in three steps with a **52%** global yield from the protected linear pentapeptide **307**.

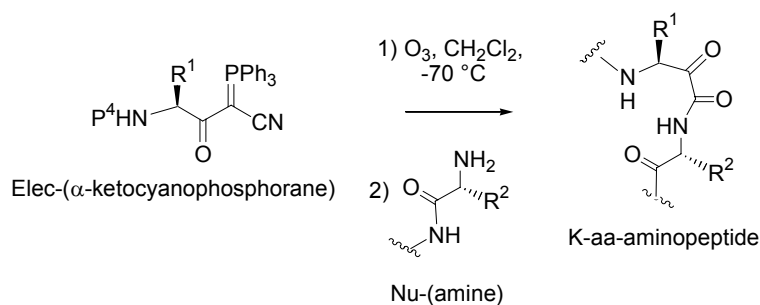
TLC *R_f* = 0.30 (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5).

¹H NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 0.08 (s, 6H), 0.82 (s, 9H), 1.18-1.75 (m, 4H), 1.84-1.93 (m, 4H), 3.10-3.30 (m, 2H), 3.25-3.35 (m, 2H), 3.58 (m, 1H), 3.80-3.98 (m, 4H), 4.00 (m, 1H),

4.10 (m, 1H), 4.85 (m, 1H), 4.99 (m, 3H), 5.15 (m, 2H), 6.02 (m, 1H), 6.82 (m, 3H), 7.12-7.65 (m, 24H), 7.98 (bs, 1H), 9.25 (bs, 1H), 9.46 (bs, 1H).

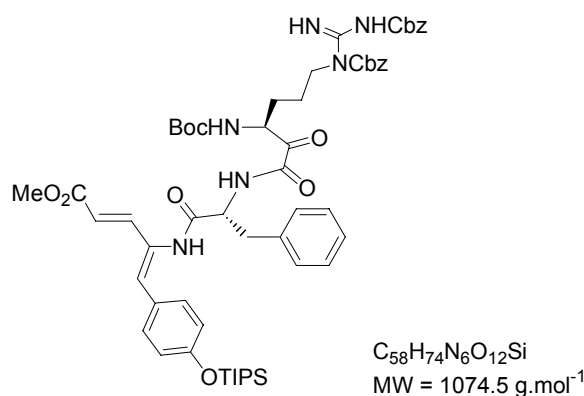
ESI-MS : $m/z = 1126$ $[\text{MNa}]^+$, 1114 $[\text{MH}]^+$.

General procedure for the KAC reaction [x+y]



A solution of α -ketocyanophosphorane (1 mmol, 1.0 eq) in CH_2Cl_2 (30 mL) at -65°C was purged with O_2 for 5 min then ozonized (Ozon generator 502, Fischer technology) for 20 min until the solution turned deep yellow-green. The solution containing the α,β -diketonitrile intermediate was purged with argon for 15 min until it became light yellow, then to this reaction mixture was added a solution of the free amine (1.2 mmol, 1.2 eq) in CH_2Cl_2 (3 mL). The mixture was stirred at -65°C for a further 1 h and warmed slowly to rt over a specified time. The solvent was evaporated under reduced pressure to afford the crude residue, which was immediately purified by flash chromatography.

N^{α} -Boc- N^{β} , N^{ϵ} -(Cbz) $_2$ -K-Arg-D-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-OMe 320



Product **320** was synthesised according to the general procedure for the KAC reaction (reaction time 1 h), using:

- α -ketocyanophosphorane **126** (285 mg, 0.34 mmol, 1.1 eq)
- amine **155** (164 mg, 0.31 mmol, 1.0 eq)
- CH₂Cl₂ (9 mL)

The crude (310 mg) was immediately purified by flash chromatography using a gradient of EtOAc/cyclohexane from 20/80 to 1/1 to obtain the desired pure product **320** as a pale yellow foam (242 mg, 0.22 mmol, **73%**).

TLC R_f = 0.27 (EtOAc/cyclohexane : 3/7).

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 0.99 (d, J = 7.6 Hz, 18H, 6 CH₃), 1.15 (m, 3H, Si-CH), 1.33 (s, 9H, C-(CH₃)₃), 1.42-1.58 (m, 3H, CH₂ K-Arg), 1.78-1.83 (m, 1H, CH₂ K-Arg), 2.88 (m, 1H, CH₂-Ph), 3.16 (m, 1H, CH₂-Ph), 3.57 (s, 3H, OMe), 3.66 (m, 2H, CH₂N K-Arg), 4.72 (dd, J = 7.0 and 14.3 Hz, 1H, CH_α Phe), 4.83 (m, 1H, CH_α K-Arg), 5.03 (m, 2H, CH₂ Cbz), 5.07 (m, 2H, CH₂ Cbz), 5.12 (d, J = 9.0 Hz, 1H, NH), 5.49 (m, 1H, NH), 5.54 (d, J = 15.6 Hz, 1H, CH=CH V- Δ Tyr), 6.49 (s, 1H, CH=C V- Δ Tyr), 6.63 (d, J = 8.0 Hz, 2H, CH_{ar}), 6.92-7.40 (m, 18H, 17 CH_{ar}+CH=CH V- Δ Tyr), 7.56 (m, 1H, NH), 9.11 (bs, 1H, NH), 9.27 (bs, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃) δ (ppm) : 12.3 (3 Si-CH), 17.9 (6 CH₃), 24.2 (CH₂, K-Arg), 27.5 (CH₂, K-Arg), 29.7 (3 CH₃, Boc), 37.3 (CH₂, Phe), 44.2 (CH₂N, K-Arg), 51.6 (O-CH₃), 54.9 (CH_α), 55.6 (CH_α), 67.1 (CH₂, Cbz), 68.9 (CH₂, Cbz), 80.0 (O-C-(CH₃)₃), 116.8 (CH=C, V- Δ Tyr), 120.2 (2 CH_{ar}), 126.9 (2 C_{ipso}), 127.2, 127.9, 128.1, 128.4, 128.8, 129.3, 131.9 (17 CH_{ar}), 134.7 (C_{ipso}, V- Δ Tyr), 135.3 (CH=CH, V- Δ Tyr), 136.0 (C_{ipso}, Cbz), 136.5 (C_{ipso}, Cbz), 143.9 (CH=CH, V- Δ Tyr), 155.6 (NHCOO, Cbz), 157.1 (NHCOO, Cbz), 160.0 (C=CH, V- Δ Tyr), 160.4 (NHCOO, Boc), 163.5 (NHCNHN), 167.2 (NHCO, Phe), 167.3 (NHCO, K-Arg), 168.7 (CO₂Me), 195.4 (CO, K-Arg).

ESI-MS : m/z = 1129 [M+MeOH+Na]⁺, 1097 [MNa]⁺.

HR-MS : m/z Calcd for [C₅₈H₇₄N₆O₁₂Si+H]⁺ 1075.5212, Found 1075.5195 (−1.6 ppm).

OR : $[\alpha]_D^{25}$ = +21.4 (c = 1.03, CHCl₃).



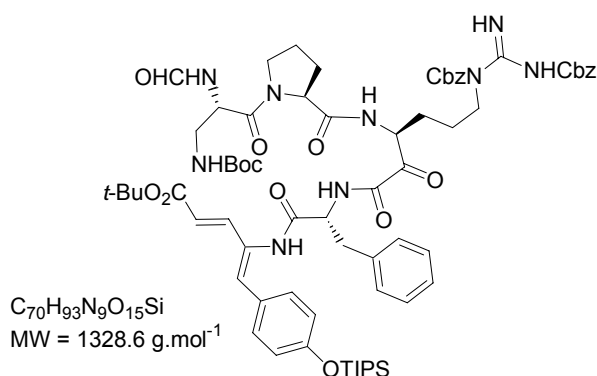
(NH $\underline{\text{C}}$ OO, Cbz), 157.6 (NH $\underline{\text{C}}$ OO, Cbz), 158.6 (CH= $\underline{\text{C}}$, V- Δ Tyr), 161.4 (NH $\underline{\text{C}}$ OO, Boc), 163.1 (NH $\underline{\text{C}}$ NHN), 166.6 (NH $\underline{\text{C}}$ O, Phe), 166.9 (NH $\underline{\text{C}}$ O, K-Arg), 170.3 ($\underline{\text{C}}$ O₂Me), 197.8 ($\underline{\text{C}}$ O, K-Arg).

ESI-MS : m/z = 1140 [MH+MeOH]⁺, 1118 [MH]⁺.

HR-MS : m/z Calcd for [C₆₁H₈₀N₆O₁₂Si+H]⁺ 1117.5682, Found 1117.5703 (+1.9 ppm).

OR : $[\alpha]_D^{22}$ = -3.6 (c = 1.50, CHCl₃).

N^L-Boc-N^u-CHO-Dpr-Pro-N^S, N^E-(Cbz)₂-K-Arg-D-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)-Ot-Bu 324



a). Preparation by peptide coupling

Protected tripeptide **321** (61 mg, 0.055 mmol, 1 eq) was treated with HCO₂H (4 mL) at rt for 1 h, then HCO₂H was evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in CH₂Cl₂ (10 mL), and this solution was washed with a saturated solution of NaHCO₃ (2×5 mL), dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to afford *N*-deprotected tripeptide crude residue (56 mg), which was used without further purification.

Product **324** was synthesised following the general procedure for the peptide coupling with EDCi/DMAP, using :

- crude** *N*-deprotected tripeptide (56 mg, 0.055 mmol, 1.0 eq)
- dipeptide **160** (22 mg, 0.067 mmol, 1.2 eq)
- DMAP (1 mg, 0.011 mmol, 0.2 eq)
- CH₂Cl₂ (5 mL)
- EDCi (17 mg, 0.088 mmol, 1.6 eq)

Product **324** was obtained after purification by flash chromatography using a gradient of CH₂Cl₂/MeOH from 100/0 to 98/2 as a yellow foam (15 mg, 0.011 mmol, **21%**).

b) Preparation via the KAC reaction

Product **324** was synthesised according to the general procedure for the KAC reaction (reaction time 18 h), using:

- α -ketocyanophosphorane **159** (74 mg, 0.071 mmol, 1.1 eq)

-amine **267** (36 mg, 0.064 mmol, 1.0 eq)

-CH₂Cl₂ (6 mL)

The crude (110 mg) was purified immediately by flash chromatography using a gradient of CH₂Cl₂/MeOH from 100/0 to 98/2 to obtain the desired pure product **324** as a yellow-orange foam (41 mg, 0.031 mmol, **48%**).

MP = 132-135 °C.

TLC R_f = 0.30 (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5).

IR (KBr) : ν = 689, 914, 1172, 1268, 1368, 1508, 1600, 1721, 2869, 2947, 3291 cm⁻¹.

¹H NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 1.01 (d, J = 7.2 Hz, 18H, 6 CH₃), 1.25 (m, 3H, 3 Si-CH), 1.40 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 1.49 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 1.60-1.92 (m, 8H, CH₂ Pro+Arg), 3.23 (m, 1H, CH₂ Phe), 3.37 (m, 3H, CH₂ Phe+CH₂N Dpr), 3.66 (m, 2H, CH₂N Pro), 3.90-3.99 (m, 1H, CH₂N K-Arg), 4.02-4.11 (m, 1H, CH₂N K-Arg), 4.48 (m, 1H, CH _{α} Pro), 4.92 (m, 1H, CH _{α} Dpr), 5.02 (dd, J = 8.2 and 14.0 Hz, 1H, CH _{α} Phe), 5.13 (m, 3H, CH _{α} K-Arg+CH₂ Cbz), 5.31 (m, 2H, CH₂ Cbz), 5.80 (d, J = 15.3 Hz, 1H, CH=CH V- Δ Tyr), 6.39 (bs, 1H, NH), 6.81 (s, 1H, CH=C V- Δ Tyr), 6.88 (d, J = 8.4 Hz, 2H, 2 CH_{ar}), 7.10-7.35 (m, 19H, 17CH_{ar}+CH=C V- Δ Tyr+NH), 7.89 (d, J = 7.2 Hz, 1H, NH), 8.13 (s, 1H, NCHO), 8.17 (d, J = 8.4 Hz, 1H, NH), 9.12 (s, 1H, NH), 9.32 (bs, 1H, NH), 9.51 (bs, 1H, NH).

¹³C NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 14.7 (3 Si-CH), 18.4 (6 CH₃), 25.6 (CH₂, Pro), 26.0 (CH₂, Arg), 27.9 (CH₂, Pro), 28.6 (3 CH₃, Boc), 28.8 (3 CH₃, *t*-Bu), 30.7 (CH₂, Arg), 37.7 (CH₂, Phe), 43.4 (CH₂N, Dpr), 45.2 (CH₂N, K-Arg), 48.2 (CH₂N, Pro), 50.6 (CH _{α} , Dpr), 55.4 (CH _{α} , K-Arg), 55.9 (CH _{α} , Phe), 60.9 (CH _{α} , Pro), 67.4 (CH₂, Cbz), 69.5 (CH₂, Cbz), 79.4 (O-C-(CH₃)₃), 80.5 (O-C-(CH₃)₃), 120.1 (CH=C, V- Δ Tyr), 120.9 (2 CH_{ar}), 127.5, 128.6, 128.8, 129.1, 129.4 130.6 (15 CH_{ar}), 130.8 (2 C_{ipso}), 132.4 (2 CH_{ar}), 135.4 (CH=CH, V- Δ Tyr), 136.4 (C_{ipso}, Phe), 138.1 (C_{ipso}, Cbz), 138.4 (C_{ipso}, Cbz), 144.3 (CH=CH, V- Δ Tyr), 156.6 (NHCOO, Cbz), 157.2 (CH=C, V- Δ Tyr), 157.5 (NHCOO, Cbz), 161.5 (NHCOO, Boc), 161.9 (NHCHO), 164.6 (NHCNHN), 166.7 (2 NHCO, Phe+Dpr), 169.9 (NHCO, K-Arg), 170.0 (NHCO, Pro), 172.6 (CO₂*t*-Bu), 196.2 (CO K-Arg).

ESI-MS : m/z = 1367 [MK]⁺, 1351 [MNa]⁺, 1329 [MH]⁺.

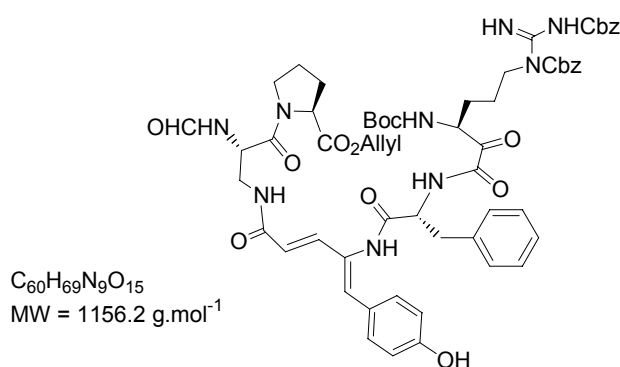
LC-MS : $m/z = 1367$ [MK]⁺, Pure product was analysed on reversed-phase HPLC using a C₁₈ column and a mobile phase gradient of CH₃CN/H₂O from 1/9 to 9/1, $t_R = 27.1$ min.

HR-MS : m/z Calcd for [C₇₀H₉₃N₉O₁₅Si+H]⁺ 1328.6639, Found 1328.6586 (−4.0 ppm).

OR : $[\alpha]_D^{22} = (-47.8$ ($c = 1.90$, CHCl₃).

EA : Calcd for C₇₀H₉₃N₉O₁₅Si : C, 63.28 ; H, 7.06 ; N, 9.49; Found : C, 63.21 ; H, 7.15; N, 9.44.

N^α-Boc-N^δ, N^ε-(Cbz)₂-K-Arg-D-Phe-V-ΔTyr-N^α-CHO-Dpr-Pro-OAllyl 325



Product **325** was synthesised according to the general procedure for the KAC reaction (reaction time 18 h), using:

-α-ketocyanophosphorane **126** (191 mg, 0.23 mmol, 2.1 eq)

-amine **277** (65 mg, 0.11 mmol, 1.0 eq)

-CH₂Cl₂ (5 mL)

The crude (131 mg) was purified immediately by flash chromatography using a gradient of CH₂Cl₂/MeOH from 100/0 to 98/2 to obtain the desired pure product **325** as a yellow-orange foam (72 mg, 0.06 mmol, **58%**).

MP = 96-98 °C.

TLC $R_f = 0.20$ (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5).

IR (KBr) : $\nu = 1097, 1175, 1447, 1512, 1610, 1652, 1720, 2928, 3390$ cm⁻¹.

¹H NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 1.24 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃), 1.50-1.72 (m, 6H, CH₂ Pro+Arg), 1.75-1.89 (m, 2H, CH₂ Pro+Arg), 2.70-3.00 (bs, 2H, CH₂ Phe+OH), 3.08 (m, 1H, CH₂-Phe), 3.26 (m, 2H, CH₂N Dpr), 3.65 (m, 2H, CH₂N Pro), 3.85 (m, 2H, CH₂N K-Arg), 4.33 (m, 1H, CH_α Pro), 4.46 (m, 2H, CH₂-Allyl), 4.81 (m, 1H, CH_α Phe), 4.90 (m, 1H, CH_α K-Arg), 4.95-5.02 (m, 3H, CH_α Dpr+CH₂ Cbz), 5.06 (td, $J = 1.4$ and 10.5 Hz, 1H, CH₂=CH), 5.13-5.22 (m,

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) : 3.78 (m, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}+\text{CH}_2$ Cbz), 5.78 (m, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}$), 5.91 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$ V- Δ Tyr), 6.22 (bs, 1H, NH), 6.60 (s, 1H, $\text{CH}=\text{C}$ V- Δ Tyr), 6.67 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2 CH_{ar}), 6.72 (bs, 1H, NH), 7.10-7.35 (m, 19H, 17 CH_{ar} + $\text{CH}=\text{C}$ V- Δ Tyr+ NH), 7.98 (bs, 1H, NH), 8.03 (s, 1H, NCHO), 8.64 (bs, 1H, NH), 9.05-9.40 (m, 2H, 2 NH).

^{13}C NMR (acetone- d_6) δ (ppm) : 25.5 (2 CH_2 , Pro+Arg), 26.2 (CH_2 , Pro or Arg), 26.3 (CH_2 , Pro or Arg), 28.6 (3 CH_3 , Boc), 38.0 (CH_2 , Phe), 42.0 (CH_2N , Dpr), 45.1 (CH_2N , K-Arg), 47.9 (CH_2N , Pro), 50.4 (CH_α , Dpr), 56.1 (CH_α , Phe), 59.8 (2 CH_α , Pro+ K-Arg), 66.0 (CH_2 , Allyl), 67.3 (CH_2 , Cbz), 69.4 (CH_2 , Cbz), 79.5 (O-C-(CH_3) $_3$), 116.4 (2 CH_{ar}), 118.3 ($\text{CH}_2=\text{CH}$, Allyl), 121.6 ($\text{CH}=\text{C}$, V- Δ Tyr), 127.4 (C_{ipso}), 127.7, 128.5, 128.8, 129.2, 129.8, 130.0 (17 CH_{ar}), 130.3 (C_{ipso}), 131.8 ($\text{CH}=\text{CH}_2$, Allyl), 135.3 ($\text{CH}=\text{CH}$, V- Δ Tyr), 136.4 (2 C_{ipso} , Phe+Cbz), 138.4 (C_{ipso} , Cbz), 141.9 ($\text{CH}=\text{CH}$, V- Δ Tyr), 156.6 (2 NHCOO , Cbz), 157.0 ($\text{CH}=\text{C}$, V- Δ Tyr), 158.9 (NHCOO , Boc), 162.4 (NHCHO), 164.5 (NHCNHN), 167.5 (NHCO , Phe), 167.6 (NHCO , K-Arg), 169.5 (NHCO , V- Δ Tyr), 170.2 (NHCO , Dpr), 172.3 (CO_2Allyl), 197.2 (CO , K-Arg).

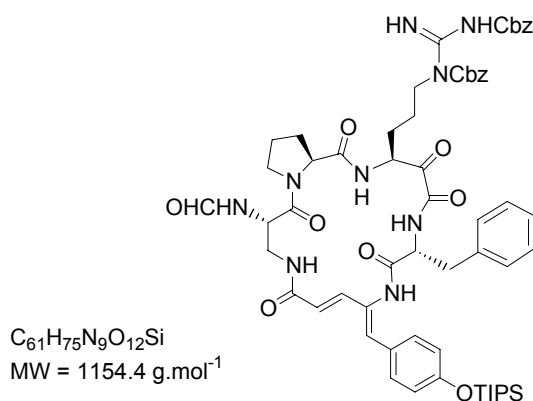
ESI-MS : $m/z = 1188$ [MNa] $^+$, 1156 [MH] $^+$.

HR-MS : m/z Calcd for [$\text{C}_{60}\text{H}_{69}\text{N}_9\text{O}_{15}+\text{H}$] $^+$ 1156.4991, Found 1156.5043 (+4.5 ppm).

OR : $[\alpha]_D^{22} = -12.7$ ($c = 1.00$, CHCl_3).

EA : Calcd for $\text{C}_{60}\text{H}_{69}\text{N}_9\text{O}_{15}$: C, 62.33 ; H, 6.01 ; N, 10.90; Found : C, 61.70 ; H, 6.25; N, 10.67.

Cyclo[N^{u} -CHO-Dpr-Pro- N^{d} , N^{e} -(Cbz) $_2$ -K-Arg-D-Phe-V- Δ Tyr(OTIPS)] 329



Protected pentapeptide **324** (160 mg, 0.12 mmol, 1 eq) was treated with a solution of CH_2Cl_2 -TFA (1/1; 6 mL) at 0 °C for 1 h, then solvents were evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in and concentrated from CH_2Cl_2 (3×30 mL) to furnish the crude trifluoroacetate salt. This residue was dissolved in CH_2Cl_2 (20 mL) and washed with

a solution of NaHCO₃ (pH 8; 5 mL) then with water (5 mL). The organic phase was dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude (142 mg, 0.12 mmol, **quant.**). This crude *N,C*-deprotected pentapeptide was used without further purification for the macrocyclisation.

The crude (40 mg, 0.034 mmol) was dissolved in a mixture of CH₂Cl₂ and DMF (2/1; 6 mL; 0.005 M) at 0°C under argon. Successively, TBTU **21** (20 mg, 0.068 mmol, 2.0 eq) and HOBt **12** (1 mg, 0.007 mmol, 0.12 eq) were added and the solution was stirred briskly and allowed to warm to rt over 24 h. The solvent was evaporated under reduced pressure to afford a crude residue (53 mg) which was purified by flash chromatography using a gradient of CH₂Cl₂/MeOH from 100/0 to 9/1 to obtain the desired pure macrocycle **329** as a pale yellow foam (20 mg, 0.017 mmol, **51%**).

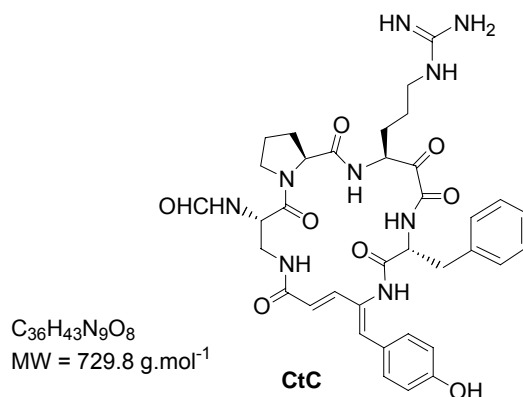
TLC *R_f* = 0.27 (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5).

¹H NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 0.99 (d, *J* = 7.2 Hz, 18H, 6 CH₃), 1.33 (m, 3H, 3 Si-CH), 1.42-1.78 (m, 8H, CH₂ Pro+Arg), 2.73 (m, 1H, CH₂N Dpr), 3.00 (dd, *J* = 9.9 and 13.7 Hz, 1H, CH₂ Phe), 3.14 (dd, *J* = 5.7 and 13.7 Hz, 1H, CH₂ Phe), 3.25 (dd, *J* = 6.5 and 16.5 Hz, 1H, CH₂N Pro), 3.41 (dd, *J* = 7.0 and 16.5 Hz, 1H, CH₂N Pro), 3.87 (m, 2H, CH₂N K-hArg), 4.08 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, CH₂N Dpr), 4.42 (dd, *J* = 5.0 and 8.4 Hz, 1H, CH_α Pro), 4.65 (dd, *J* = 6.5 and 10.3 Hz, 1H, CH_α Dpr), 4.72 (dd, *J* = 6.0 and 9.2 Hz, 1H, CH_α Phe), 4.99 (m, 3H, CH_α K-Arg+CH₂ Cbz), 5.19 (m, 3H, CH₂ Cbz+NH), 5.84 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H, CH=CH V-ΔTyr), 6.71 (m, 3H, CH=C V-ΔTyr+2 CH_{ar}), 7.03-7.48 (m, 20H, 17CH_{ar}+CH=C V-ΔTyr+2NH), 7.98 (s, 1H, NCHO), 8.02 (bs, 1H, NH), 8.61 (s, 1H, NH), 9.15 (bs, 1H, NH), 9.39 (bs, 1H, NH).

¹³C NMR (acetone-*d*₆) δ (ppm) : 13.4 (3 Si-CH), 18.3 (6 CH₃), 25.5 (CH₂, Pro), 26.0 (CH₂, Arg), 30.7 (CH₂, Pro), 32.6 (CH₂, Arg), 38.7 (CH₂, Phe), 41.6 (CH₂N, Dpr), 44.6 (CH₂N, K-Arg), 48.5 (CH₂N, Pro), 48.9 (CH_α, Dpr), 55.3 (CH_α, Phe), 59.7 (CH_α, K-Arg), 60.0 (CH_α, Pro), 67.2 (CH₂, Cbz), 69.6 (CH₂, Cbz), 119.5 (CH=C, V-ΔTyr), 120.7 (2 CH_{ar}), 127.4, 128.5, 128.8, 129.2, 129.6 130.1 (15 CH_{ar}), 130.3 (2 C_{ipso}), 131.9 (2 CH_{ar}), 135.4 (CH=CH, V-ΔTyr), 136.3 (C_{ipso}, Phe), 138.0 (C_{ipso}, Cbz), 138.5 (C_{ipso}, Cbz), 141.4 (CH=CH, V-ΔTyr), 156.5 (NHCOO, Cbz), 157.3 (NHCOO, Cbz), 159.2 (CH=C, V-ΔTyr), 161.1 (NHCHO), 164.4 (NHCNHN), 166.0 (NHCO, Phe), 169.4 (NHCO, Dpr), 170.0 (NHCO, V-ΔTyr), 170.1 (NHCO, Pro), 174.5 (NHCO, K-Arg), 196.1 (CO, K-Arg).

ESI-MS : *m/z* = 1186 [MH+MeOH]⁺, 1154 [MH]⁺.

OR : [α]_D²² = +44.0 (*c* = 0.80, CHCl₃).

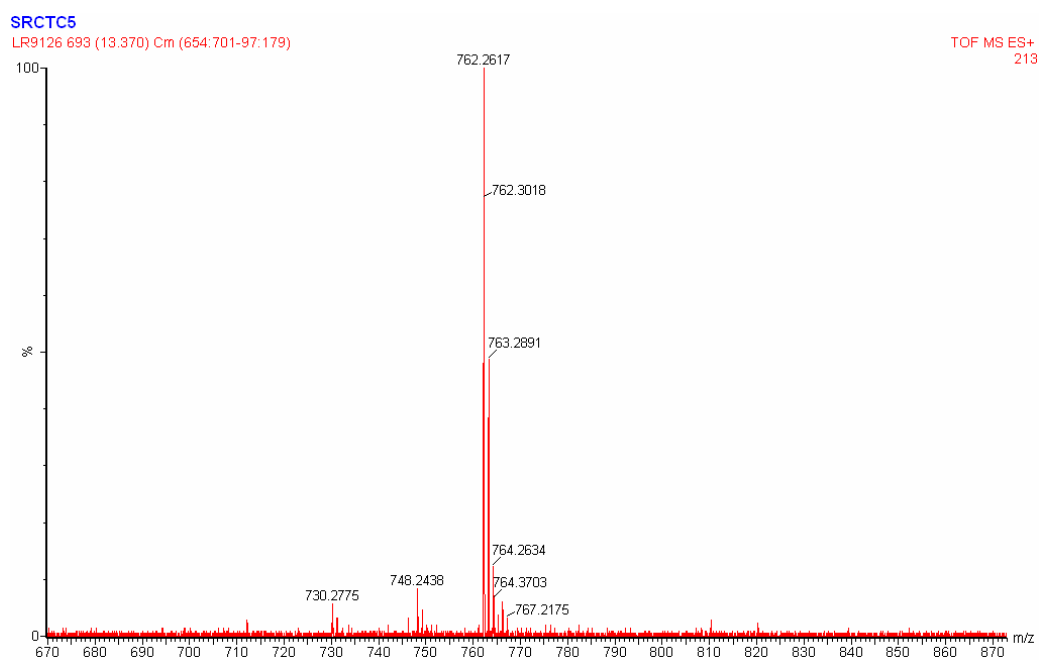
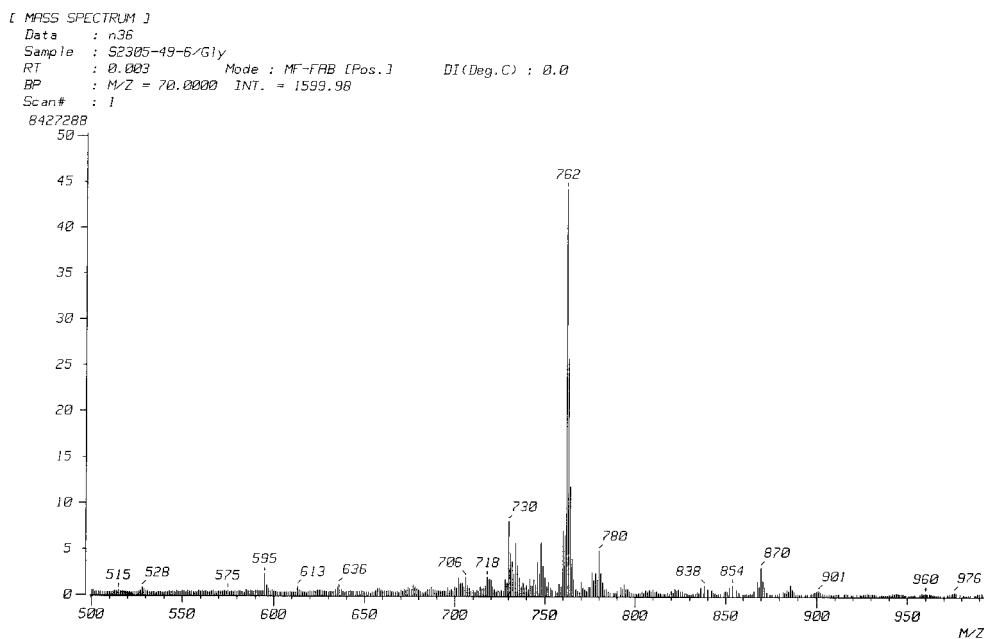
Cyclo[*N*^g-CHO-Dpr-Pro-K-Arg-*D*-Phe-V-ΔTyr] CtC

Product **329** (20 mg, 0.017 mmol) was treated in a vessel glass of Teflon[®] under argon with HF.py (1 mL) and anisole (0.5 mL) at 0 °C. The resulting mixture was stirred and allowed to warm to rt over 3 h. Argon was then bubbled through the solution for 1 h to remove excess HF ; water (5 mL) was added and the resulting solution was evaporated under reduced pressure to afford the crude (500 mg). The residue was purified by filtration through a SPE-PAK (C₁₈ reverse phase, Cartridge, Waters). This SPE cartridge was initially washed using MeOH (3 mL) and conditioned with water (3 mL). The solution of product (500 mg) in water (5 mL) was then loaded on the cartridge and washed with water (3 mL) to remove the pyridinium salts. The product was removed from the cartridge using MeOH (2×2 mL) and the resulting solution was evaporated under reduced pressure to afford the crude (20 mg), which was a mixture of two different compounds (the supposed CtC and an intermediate containing a Cbz group).

ESI-MS : $m/z = 730$ [MH]⁺, 748 [MH+H₂O]⁺.

LC-MS : Crude product was analysed on reversed-phase HPLC using a C₁₈ column and a mobile phase gradient of CH₃CN/H₂O from 1/9 to 9/1, $t_{R1} = 7.5$ min ($m/z = 730$ [MH]⁺), $t_{R2} = 8.0$ min ($m/z = 748$ [MH+H₂O]⁺), $t_{R3} = 9.2$ min ($m/z = 864$ [MH+Cbz]⁺), $t_{R4} = 9.7$ min ($m/z = 882$ [MH+Cbz+H₂O]⁺).

The FAB mass spectrum of CtC isolated by Fusetani and the ESI mass spectrum of the synthetic CtC sample are presented below.



Will be completed

Chapitre VIII.

Références Bibliographiques

- [1] B. M. Rode, *Peptides* **1999**, 20, 773-786.
- [2] T. Kimmerlin, D. Seebach, *J. Peptide Res.* **2005**, 65, 229-260.
- [3] T. Curtius, *J. Prakt. Chem.* **1882**, 26, 145-208.
- [4] T. Curtius, *J. Prakt. Chem.* **1904**, 70, 57-108.
- [5] E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1905**, 38, 605-620.
- [6] L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 4427-4430.
- [7] J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 1067-1068.
- [8] L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 4397-4398.
- [9] S-Y. Han, Y-A. Kim, *Tetrahedron* **2004**, 60, 2447-2467.
- [10] B. Castro, J. R. Dormoy, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 3243-3246.
- [11] V. Dourtoglou, J-C. Ziegler, B. Gross, *Synthesis* **1984**, 572-574.
- [12] T. Shiori, K. Ninomiya, S.-I. Yamada, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 6203-6205
- [13] G. W. Anderson, J. E. Zimmerman, F. M. Callahan, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 5012-5017.
- [14] R. Schwyzer, P. Sieber, *Nature* **1963**, 199, 172-174.
- [15] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.
- [16] L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 5748-5749.
- [17] K. Barlos, D. Gatos, *Biopolymers* **1999**, 51, 266-278.
- [18] Revue : D. S. Y. Yeo, R. Srinivasan, G. Y. J. Chen, S. Q. Yao, *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 4664-4672.
- [19] A. Wlodawer, M. Miller, M. Jaskolski, B. K. Sathyanarayana, E. Baldwin, I. T. Weber, L. M. Selk, L. Clawson, J. Schneider, S. B. H. Kent, *Science*, **1989**, 245, 616-621.
- [20] S. Kent, *J. Peptide Sci.* **2003**, 9, 574-593.
- [21] *Dictionary of Natural Products* **1994** Vol. 7, Ed. Chapman & Hall, London, p 288-292.
- [22] D. A. Evans, A. E. Weber, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 6757-6761.
- [23] R. E. Moore, J. L. Chen, B. S. Moore, G. M. L. Patterson, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 5083-5084.
- [24] Revue : J. M. Humphrey, A. R. Chamberlin, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 2243-2266.
- [25] J. Kobayasi, M. Ishibashi, M. Daus, in *Comprehensive Natural Products Chemistry* Vol. 8, **1999**, Ed. K. Mori, Elsevier, Oxford, p 415-649.
- [26] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **2000**, 17, 1-6 ; et les revues suivantes dans cette série.
- [27] Un fascicule entier de *Chemical Reviews* est dédié à la chimie des produits marins : *Chem. Rev.* **1993**, 93, Fascicule n° 5, p 1673-1944.

- [28] N. Fusetani, *Drugs from the Sea* **2000**, Ed. Karger, Bâle.
- [29] D. H. Attaway, O. R. Zaborsky, *Pharmaceutical and Bioactive Natural Products* **1992**, Vol. 1, Ed. Plenum Press, New York.
- [30] E. W. Schmidt, D. J. Faulkner, *Tetrahedron* **1998**, 54, 3043-3056.
- [31] H. Uemoto, Y. Yahiro, H. Shigemori, M. Tsuda, T. Takao, Y. Shimonishi, J. Kobayashi, *Tetrahedron* **1998**, 54, 6719-6724.
- [32] P. W. Ford, K. R. Gustafson, T. C. McKee, N. Shigematsu, L. K. Maurizi, L. K. Pannell, D. E. Williams, E. D. De Silva, P. Lassota, T. M. Allen, R. Van Soest, R. J. Andersen, M. R. Boyd, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 5899-5909.
- [33] N. Fusetani, S. Matsunaga, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7053-7054.
- [34] N. Fusetani, S. Matsunaga, Y. Nakao, *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, 3, 1115-1122.
- [35] N. Fusetani, S. Matsunaga, Y. Nakao, N. Oku, *J. Nat. Prod.* **1998**, 61, 667-670.
- [36] Y. Murakami, M. Takei, K. Shindo, C. Kitazume, J. Tanaka, T. Higa, H. Fukamachi, *J. Nat. Prod.* **2002**, 65, 259-261.
- [37] R. W. Colman, J. Hirsh, V. J. Marder, E. W. Salzman, Eds.; *Haemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice*, **1994**, 3rd Edn., Lipincott, Philadelphia.
- [38] L. J. Berliner, Ed.; *Thrombin: structure and function* **1992**, Plenum Press, New York.
- [39] B. E. Maryanoff, X. Qui, K. P. Padmanabhan, A. Tulinsky, H. R. Almond, Jr., P. Andrade-Gordon, M. N. Greco, J. A. Kauffman, K. C. Nicolaou, A. Liu, P. H. Brungs, N. Fusetani, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 8048-8052.
- [40] V. Ganesh, A. Y. Lee, J. Clardy, A. Tulinsky, *Protein Sci.* **1996**, 5, 825-835.
- [41] Références citées dans a) J. P. Vacca, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1998**, 33, 81-90; b) J. M. Fevig, R. R. Wexler, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1999**, 34, 81-100; c) S. Hanessian, E. Balaux, D. Musil, L.-L. Olsson, I. Nilsson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 243-247.
- [42] P. E. J. Sanderson, A. M. Naylor-Olsen, *Curr. Med. Chem.* **1998**, 5, 289-304.
- [43] W. Bode, D. Turk, A. Karshikov, *Protein Sci.* **1992**, 1, 426-471.
- [44] A. Y. Lee, M. Hagihara, R. Karmacharya, M. W. Albers, S. L. Schreiber, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 12619-12620.
- [45] B. E. Maryanoff, H.-C. Zhang, M. N. Greco, E. Zhang, P. Vanderhoff-Hanaver, A. Tulinsky, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 3667-3670.
- [46] M. Hagihara, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 6570-6571.
- [47] a) Communication préliminaire : P. Wipf, H.-Y. Kim, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 4275-4278; b) Full paper : P. Wipf, H. Kim, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 5592-5594.

- [48] a) Full paper : J. Deng, Y. Hamada, T. Shiori, S. Matsunaga, N. Fusetani, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 1729-1731; b) Full paper : J. Deng, T. Shioiri, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2261-2264.
- [49] a) Communication préliminaire : H. M. M. Bastiaans, J. L. Van der Baan, H. C. J. Ottenheijm, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *33*, 5963-5966; b) Full paper : H. M. M. Bastiaans, J. L. Van der Baan, H. C. J. Ottenheijm, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3880-3889.
- [50] B. E. Maryanoff, M. N. Greco, H. C. Zhang, P. Andrade-Gordon, J. A. Kauffman, K. C. Nicolaou, A. Liu, P. H. Brungs, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1225-1239.
- [51] a) Communication préliminaire : H. Wasserman, R. Zhang, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3743-3746; b) Full paper : H. Wasserman, R. Zhang, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6277-6283.
- [52] D. Seebach, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1967**, *6*, 442-444.
- [53] T. D. Owens, J. E. Semple, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3301-3304.
- [54] M. Passerini, *Gazz. Chim. Ital.* **1921**, *51*, 126-129.
- [55] Revue : A. Dömling, I. Ugi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3168-3210.
- [56] J. Zhu, H. Bienaymé, *Multicomponents Reactions* **2005**, Wiley-VCH, New-York.
- [57] L. Banfi, R. Riva, *Org. React.* **2005**, *65*, p 1-140.
- [58] B. E. Maryanoff, H-C. Zhang, M. N. Greco, K. A. Glover, J. A. Kauffman, P. Andrade-Gordon, *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, *3*, 1025-1038.
- [59] M. N. Greco, B. E. Maryanoff, *PCT Int. Appl.* **1997**, pp 118.
- [60] H. Nemoto, Y. Kubota, Y. Yamamoto *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4515-4516.
- [61] H. Nemoto, R. Ma, I. Suzuki, M. Shibuya, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 4245-4247.
- [62] H. H. Wasserman, W-B. Ho, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4364-4366.
- [63] a) H. H. Wasserman, D. S. Ennis, C. A. Blum, V. M. Rotello, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6003-6006; b) H. H. Wasserman, D. S. Ennis, P. L. Power, M. J. Ross, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4785-4787; c) H. H. Wasserman, K. Lee, M. Xia, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2511-2514.
- [64] M. Jetten, C. A. M Peters, J. W. F. M. van Nipsen, H. C. J. Ottenheijm, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6025-6028.
- [65] Revue : J. Jurczak, A. Golebiowski, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 149-164.
- [66] Revue : D. Gryko, J. Chalko, J. Jurczak, *Chirality* **2003**, *15*, 514-541.
- [67] Y.-K. Shue, G. M. Carrera, M. D. Tufano, A. M. Nadzan, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2107-2111.
- [68] Revue : J. Singh, N. Satyamurthi, I. Singh Aidhen, *J. Prakt. Chem.* **2000**, *342*, 340-347.

- [69] Revue: M. P. Sibi, *Org. Prep. Proc. Int.* **1993**, 25, 15-40.
- [70] M. Paris, C. Pothion, A. Heitz, J. Martinez, J-A. Fehrentz, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 1341-1344.
- [71] J.-A. Fehrentz, B. Castro, *Synthesis* **1983**, 676-678.
- [72] J. J. Wen, C. M. Crews, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, 9, 1855-1858.
- [73] S. Benetti, C. De Risi, P. Marchetti, G. P. Pollini, V. Zanirato, *Synthesis* **2002**, 331-338.
- [74] a) T. Fukuyama, S.-C. Lin, L. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7050-7051; b) H. Tokuyama, S. Yokoshima, S.-C. Lin, L. Li, T. Fukuyama, *Synthesis* **2002**, 1121-1123.
- [75] P. T. Ho, K.-Y. Ngu, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 2313-2316.
- [76] L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Org. Chem.* **1972**, 37, 3404-3409.
- [77] L. D. Arnold, T. H. Kalantar, J. C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 7105-7109.
- [78] Y. Zou, N. E. Fahmi, C. Vialas, G. M. Miller, S. M. Hecht, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 9476-9488.
- [79] M. E. Solomon, C. L. Lynch, D. H. Rich, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 4955-4958.
- [80] P. J. Dunn, R. Häner, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 5017-5025.
- [20] E. A. Englund, H. N. Gopi, D. H. Appella, *Org. Lett.* **2004**, 6, 213-215.
- [20] M. Waki, Y. Kitajima, N. Izumiya, *Synthesis* **1981**, 266-268.
- [20] a) G. M. Loudon, A. S. Radhakrishna, M. R. Almond, J. K. Blodgett, R. H. Boutin, *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 4272-4276; b) G. M. Loudon, A. S. Radhakrishna, M. R. Almond, J. K. Blodgett, R. H. Boutin, *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 4277-4284.
- [20] L.-H. Zhang, G. S. Kauffman, J. A. Pesti, J. Yin, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 6918-6920.
- [20] M. S. Egbertson, C. F. Homnick, G. D. Hartman, *Synth. Commun.* **1993** 23, 703-709.
- [20] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Edn.*, **1999**, Wiley, New-York, p 550-552.
- [20] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Edn.*, **1999**, Wiley, New-York, p 552-555.
- [20] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Edn.*, **1999**, Wiley, New-York, p 518-525.
- [20] D. R. Hill, C.-N. Hsiao, R. Kurukulasuriya, S. J. Wittenberger, *Org. Lett.* **2002**, 4, 111-113.
- [90] S. Krishnamurthy, *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 3315-3318.
- [91] M. D. Meyer, R. J. Altenbach, H. Bai, F. Z. Basha, W. A. Carroll, J. F. Kerwin, S. A. Lebold, M. E. Brune, S. A. Buckner, A. A. Hancock, I. Drizin, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 1971-1985.

- [92] H. H. Wasserman, A. K. Petersen, M. Xia, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 6771-6784.
- [93] H. H. Wasserman, A. K. Petersen, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 953-956.
- [94] H. H. Wasserman, A. K. Petersen, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8972-8973.
- [95] S. Colarusso, B. Gerlach, U. Koch, E. Muraglia, I. Conte, I. Stansfield, V. G. Matassa, F. Narjes, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 705-708.
- [96] Revue : H. H. Wasserman, J.-H. Chen, M. Xia, *Helv. Chim. Acta* **2002**, *83*, 2607-2616.
- [97] J. Coste, E. Frérot, P. Jouin, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2437-2446.
- [98] M. Carmignani, A. R. Volpe, B. Botta, R. Espinal, S. C. de Bonnevaux, C. de Luca, M. Botta, F. Corelli, A. Taffi, R. Sacco, G. D. Monache, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2950-2958.
- [99] H. Nemoto, Y. Kubota, Y. Yamamoto, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4515-4516.
- [100] E. Diez-Barra, A. Hoz, A. Moreno, P. Sanchez-Verdu, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1991**, 2589-2592.
- [101] H. Nemoto, X. Li, R. Ma, I. Suzuki, M. Shibuya, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 73-75.
- [102] T. Abellan, B. Mancheno, C. Najera, J. M. Sansano, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 6627-6640.
- [103] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Edn.*, **1999**, Wiley, New-York, p 518-525.
- [104] A. I. Meyers, F. X. Tavares, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8207-8215.
- [105] M. J. Dunn, R. F. W. Jackson, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 13905-13914.
- [106] Y. F. Zhu, T. Yamazaki, J. W. Tsang, S. Lok, M. Goodman, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1074-1081.
- [107] M. J. Miller, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 3131-3132.
- [108] B. Miossec, R. Danion-Bougot, D. Danion, *Synthesis* **1994**, 1171-1174.
- [109] R. S. Coleman, A. J. Carpenter, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4452-4461.
- [110] Revue : I. P. Beletskaya, A. V. Cheprakov, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 3009-3066.
- [111] D. J. Aitken, S. Faure in *Comprehensive Organic Functional Group Transformations II*, A. R. Katritzky, R. J. K. Taylor, Eds ; Elsevier, Amsterdam, **2005**, Vol. I. Chapter 11, p 463-531.
- [112] Revue: G. T. Crisp, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 427-436.
- [113] a) C. Amatore, A. Jutand, A. Thuilliez, *Organometallics* **2001**, *20*, 3241-3249; b) Revue: Amatore, A. Jutand, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 314-321.
- [114] E. J. Corey, A. Venkateswarlu, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6190-6191.
- [115] A-S. Carlström, T. Frejd, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1289-1293.
- [116] M. K. Gurjar, A. Talukdar, *Synthesis* **2002**, 315-316.
- [117] N. S. Wilson, B. A. Keay, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 153-156.

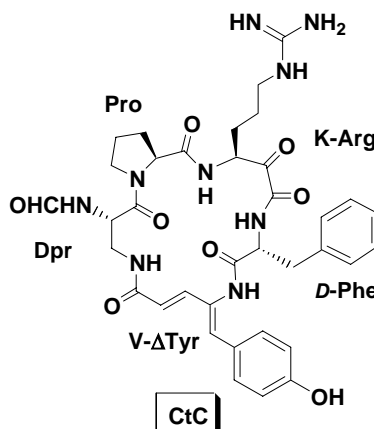
- [118] a) W. A. Herrmann, C. Brossmer, C. P. Reisinger, T. H. Riermeier, K. Öfele, M. Beller, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1357-1364; b) W. A. Herrmann, C. Brossmer, K. Öfele, C.-P. Reisinger, T. Priermeier, M. Beller, H. Fischer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 1844-1849; c) V. P. W. Böhm, W. A. Herrmann, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 4191-4197; d) Revue : W. A. Herrmann, V. P. W. Böhm, C.-P. Reisinger, *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 23-41.
- [119] M. Beller, T. H. Riermeier, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6535-6538.
- [120] A. Srinivasan, K. D. Richards, R. K. Olsen, *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17*, 891-894.
- [121] A.-S. Carlström, T. Frejd, *Synthesis* **1989**, 414-418.
- [122] Revue : N. Miyaura, A. Suzuki, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457-2483.
- [123] R. Wang, B. Twamley, J. M. Shreeve, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 426-429.
- [124] Y.-C. Lai, H.-Y. Chen, W.-C. Hung, C.-C. Lin, F.-E. Hong, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 9484-9489.
- [125] Revue : K. C. Nicolaou, P. G. Bulger, D. Sarlah, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4442-4489.
- [126] a) M. J. Burk, J. G. Allen, W. F. Kiesman, K. M. Stoffan *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1309-1312; b) M. J. Burk, J. G. Allen, W. F. Kiesman, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 657-663.
- [127] C. B. Koning, J. P. Michael, A. L. Rousseau, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 787-797.
- [128]¹ J. Kristensen, M. Lysen, p. Vedso, M. Begtrup, *Org. Lett.*, **2001**, *3*, 1435-1437.
- [129] U. Schmidt, H. Griesser, V. Leitenberger, A. Lieberknecht, R. Mangold, R. Meyer, P. Riedl, *Synthesis* **1992**, 487-490.
- [130] U. Schmidt, A. Lieberknecht, J. Wild, *Synthesis* **1984**, 53-59.
- [131] Revue : U. Schmidt, A. Lieberknecht, J. Wild, *Synthesis* **1988**, 159-172.
- [132] M. McGuinness, H. Shechter, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4987-4990.
- [133] W. Wang, J. S. McMurray, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2501-2504.
- [134] R. T. Buck, P. A. Clarke, D. M. Coe, M. J. Drysdale, L. Ferris, D. Haigh, C. J. Moody, N. D. Pearson, E. Swann, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 2160-2167.
- [135] U. Zoller, D. Ben-Ishai, *Tetrahedron* **1975**, *31*, 863-866.
- [136] M. G. Stocksdales, S. Ramurthy, M. J. Miller, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1221-1225.
- [137] B. M. Schiavi, D. J. Richard, M. M. Jouillié, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 620-624.
- [138] Y. Nakamura, C.-G. Shin, *Synthesis* **1994**, 552-555.
- [139] W. Wang, J. Zhang, C. Xiong, V. Hruby, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2137-2140.
- [140] H. Akita, C. Y. Chen, K. Kato, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 11011-11026.

- [141] E. G. Baggiolini, H. L. Lin, G. Pizzolato, M. R. Uskokovic, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6460-6462.
- [142] J. C. Lee, J. K. Cha, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 10175-10184.
- [143] S. Nahm, S. M. Weinreb, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3815-3818.
- [144] J. M. Williams, R. B. Jobson, N. Yasuda, G. Marchesini, U.-H. Dolling, E. J. J. Grabowski *Tetrahedron Lett.* **1995**, *31*, 5461-5464.
- [145] C. Grison, S. Genève, E. Halbin, P. Coutrot, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4903-4923.
- [146] J. Uenishi, R. Kawahama, A. Tanio, S. Wakabayashi, O. Yonomitsu, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 2439-2448.
- [147] S. K. Chattopadhyay, G. Pattenden, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2000**, 2429-2454.
- [148] L. Blackburn, C. Pei, R. J. K. Taylor, *Synlett* **2002**, 215-218.
- [149] J. Einhorn, C. Einhorn, F. Ratajczak, J.-L. Pierre, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7452-7454.
- [150] R. A. Sheldon, I. W. C. E. Arends, G.-J. T. Brink, A. Dijkman, *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 774-781.
- [151] M. F. Semmelhack, C. R. Schmidt, D. A. Cortês, C. S. Chou, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3374-3376.
- [152] Revue : S. V. Ley, J. Norman, W. P. Griffith, S. P. Marsden, *Synthesis* **1994**, 639-666.
- [153] A. G. M. Barrett, D. Hamprecht, M. Ohkubo, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 9376-9378.
- [154] a) X. Wei, R. J. K. Taylor, *tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3815-3818; b) X. Wei, R. J. K. Taylor, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 616-620.
- [155] S. Shuto, S. Niizuma, A ; Matsuda, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4489-4493.
- [156] F. S. Gibson, S. C. Bergmeier, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3216-3218.
- [157] J. Borgulya, K. Bernauer, *Synthesis*, **1980**, 545-547.
- [158] T. Ogawa, M. Araki, T. Miyamae, T. Okayama, M. Hagiwara, S. Sakurada, T. Morikawa, *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 759-771.
- [159] L. L. Klein, L. Li, H.-J. Chen, C. B. Curty, D. A. DeGoey, D. A. Grampovnik, C. L. Leone, S. A. Thomas, C. M. Yeung, K. W. Funk, V. Kishore, E. O. Lundell, D. Wodka, J. A. Meulbroek, J. D. Alder, A. M. Nilius, P. A. Lartey, J. J. Plattner, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 1677-1696.
- [160] T. Shioiri, Y. Hamada, *Synlett* **2001**, *2*, 184-201.
- [161] Z.-J. Yao, B. Ye, K. Miyoshi, A. Otaka, T. R. Burke, *Synlett* **1998**, 428-429.
- [162] H. Moriyama, Y. Hiramatsu, T. Kiyoi, T. Achiba, Y. Inoue, H. Kondo, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1479-1491.

- [163] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Edn.*, **1999**, Wiley, New-York, p 273-276.
- [164] Revue: C. J. Salomon, E. G. Mata, O. A. Mascaretti, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3691-3748.
- [165] C. J. Salomon, E. G. Mata, O. A. Mascaretti, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7259-7266.
- [166] E. J. Toone, M. J. Werth, J. B. Jones, *J. Am. Chem. Soc.* **1990** *112*, 4946-4952.
- [167] T. Furutani, M. Furui, *Biotechnology Lett.* **1999** *21*, 1101-1105.
- [168] Y.-S. Jung, T.-S. Kang, J.-H. Yoon, B.-Y. Joe, H.-J. Lim, C.-M. Seong, W.-K. Park, J.-Y. Kong, J. Cho, N.-S. Park, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2599-2602.
- [169] J. M. Brunel, C. S. Salmi, Y. Letourneux, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 217-220.
- [170] S.-H. Park, S.-H. Kang, S.-H. Lim, H.-S. Oh, K.-H. Lee, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3455-3459.
- [171] M. Nazaré, H. Waldmann, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 3363-3376.
- [172] R. Baker, J. L. Castro, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 378-381.
- [173] P. Wipf, T. Kim, P. C. Fritch, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 7195-7203.
- [174] a) D. S. Smith, K. G. Boyd, D. Hopton, R. L. Baxter, R. Ramage, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* **1993**, 551-556; b) I. J. Galpin, A. K. Mohammed, A. Patel, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 1685-1690.
- [175] Revue: P. Doz, I. Ugi, U. Fetzer, U. Eholzer, H. Knupfer, K. Offermann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1965**, *4*, 472-484.
- [176] S. M. Creedon, H. K. Crowley, D. G. McCarthy, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1998**, 1015-1017.
- [177] G. Cuny, R. Gamez-Montano, J. Zhu, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 4879-4885.
- [178] Revue: D. J. Ramon, M. Yus, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1602-1634.
- [179] M. Passerini, *Gazz. Chim. Ital.* **1922**, *52*, 250-257.
- [180] M. A. Mironov, M. N. Ivantsova, M. I. Tokareva, V. S. Mokrushin, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 3957-3960.
- [181] A. G. Neo, J. Delgado, C. Polo, S. Marcaccini, C. F. Marcos, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 23-26.
- [182] G. Cuny, R. Gamez-Montano, J. Zhu, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 4879-4889.
- [183] a) L. Banfi, G. Guanti, R. Riva, A. Basso, E. Calcagno, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4067-4069; b) L. Banfi, G. Guanti, R. Riva, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **2000**, 985-986.
- [184] H. Nemoto, R. Ma, X. Li, I. Suzuki, M. Shibuya, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2145-2147.
- [185] Revue: J. Blankenstein, J. Zhu, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 1949-1964.

- [186] Revue : J. S. Davies, *J. Peptide Sci.* **2003**, 9, 471-501.
- [187] R. Knorr, A. Trzeciak, W. Bannwarth, D. Gillessen, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 1927-1930.
- [188] F. Yokokawa, A. Inaizumi, T. Shioiri, *Tetrahedron* **2005**, 61, 1459-1480.
- [189] Revue : F. Guibé, *Tetrahedron* **1998**, 54, 2967-3042.
- [190] S. Chen, J. Xu, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 6711-6714.
- [191] H. Nemoto, T. Kawamura, N. Miyoshi, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 14546-14547.
- [192] H. H. Wasserman, J. Wang, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 5581-5586.
- [193] Revue : H. H. Wasserman, J. Parr, *Acc. Chem. Res.* **2004**, 37, 687-701.
- [194] E. Didier, D. C. Horwell, M. C. Pritchard, *Tetrahedron* **1992**, 39, 8471-8490.
- [195] P. Danner, M. Bauer, P. Phukan, M. E. Maier, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 317-325.
- [196] S. Matsuura, C-H. Niu, J. S. Cohen, *J. Chem. Soc., Chem Commun.* **1976**, 451-452.
- [197] W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 2923-2925.

Abstract



The objective of this research work was to carry out the first total synthesis of Cyclotheonamide C (CtC), a macrocyclic pentapeptide isolated from the sponge *Theonella swinhoei*, which is a powerful inhibitor of thrombin and other serine proteases. It has several unique structural features, including a vinylogous dehydrotyrosine (V- Δ Tyr) and an α -ketohomoarginine (K-Arg), and represents a considerable synthetic challenge.

We reasoned that the key feature of the total synthesis of CtC would involve the creation of the K-Arg moiety or an appropriate surrogate, α -Hydroxyhomoarginine (H-Arg) in advanced peptide intermediates. Three different strategies for achieving this are proposed: they are designated “Passerini – Acyl Migration” (PAM), “Masked Acyl Cyanide” (MAC) and “ α -Keto-Acyl Cyanide” (KAC).

The first chapter of the thesis is a short appraisal of all known previous syntheses of members of the Ct family (essentially concerning CtA, CtB, CtE₂ and CtE₃). After the presentation of the three strategies for the construction of the H-Arg or K-Arg moieties, in chapter II, chapters III and IV are devoted respectively to the preparation of electrophilic peptides (aldehydes and α -ketocyanophosphoranes) and nucleophilic peptides (amines and isonitiles) which are necessary for the execution of the different strategies. We also describe the first construction of the V- Δ Tyr moiety within a dipeptide, using several approaches (palladium cross-coupling and Wadsworth-Emmons reactions) and revealed the particular reactivity of this totally conjugated system. In chapter V, the three strategies PAM, MAC and KAC are developed to furnish several linear and hence macrocyclic pentapeptide advanced intermediates. Deprotection and oxidation steps formally complete the total synthesis of CtC. To our knowledge, this chemistry involved in the PAM and MAC strategies has never been applied to such elaborate structures. Procedures according to the KAC strategy are the most advanced, and have allowed characterization of the first synthetic sample of CtC by LC-MS.